

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

RECEIVED

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

JAN 04 2002

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECH CENTER 1600/2900

Applicant's or agent's file reference D 2923 PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/00174	International filing date (day/month/year) 12 January 2000 (12.01.00)	Priority date (day/month/year) 13 January 1999 (13.01.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 39/395		
Applicant IGENEON KREBS-IMMUNTHERAPIE FORSCHUNGS- UND ENTWICKLUNGS-AG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 1 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 10 August 2000 (10.08.00)	Date of completion of this report 30 March 2001 (30.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/00174

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

☒ the international application as originally filed.

☐ the description, pages 1-29, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.

☐ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-9, filed with the letter of 13 March 2001 (13.03.2001),
Nos. _____, filed with the letter of _____.

☐ the drawings, sheets/fig 1/13-13/13, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages _____

☐ the claims, Nos. _____

☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/00174

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

The sequence protocols on pages 1/2 - 2/2 are included in the basis of this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/00174

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1 - 9	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1 - 9	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 9	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1. Reference is made to the following documents:

D1: WO-A-98/56416

D2: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE
AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH,
March 1998, page 355

D3: WO-A-97/15597

D4: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE
AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH,
Vol. 38, 1997, page 616

D5: WO-A-98/56419.

2. The amendments submitted with the letter of 13 March 2001 meet the requirements of PCT Article 34(2)(b).

3. In light of the searched prior art the subject matter of Claim 1 appears to be novel and to involve an inventive step (PCT Article 33(2) and (3)).

In response (letter of 6 March 2001) to the first written opinion, the applicant submitted detailed arguments, test results and further documents:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- D6 Molecular Immunology 33, 16, 1217 - 1222, 1996
(Miller)
- D7: The Lancet 343, 1177 - 1183, 1994 (Riethmüller
et al.)
- D8: Journal of Immunotherapy 15, 303, 311, 1994
(Herlyn et al.)
- D9: Cancer Research 60, 1921 - 1926, 2000 (Gruber et
al.)

a) Novelty:

D1 (abstract; page 7, paragraph 1) discloses antibodies which are directed against human cellular tumour-associated antigens (TAA), such as p53, NDF, EGF, CEA and tyrosinase, which are involved in adhesion processes (see also page 9, paragraph 2, of the present description). The cellular membrane antigen Ep-CAM is not described.

D3 turns its main attention to peptides derived from Ep-CAM for treating and preventing cancer. D3 further describes therapeutic anti-cancer vaccination with an anti-Ep-CAM monoclonal antibody in conditions of low tumour intensity (page 2, paragraph 2). D7, which is mentioned on page 2 of D3, describes passive immunotherapy, as is derived, in particular, from D9 (see, for example, page 1925, left-hand column). D8, which is also mentioned on page 2 of D3, describes immunization with an anti-idiotypic antibody and thus likewise does not concern the anti-Ep-CAM antibodies claimed in the present application.

b) Inventive step:

The antibodies mentioned in D1 ("Ab1 anti-TAA mAB")

THIS PAGE BLANK (USPTO)

are proposed for active therapeutic, *inter alia* intradermal (page 16, line 1), anti-cancer vaccination (page 8, lines 25 ff.; see also page 11, lines 4 and 5). The induction of anti-p53 immunity as therapeutic and prophylactic vaccination is explained in greater detail by way of example (see page 17, Example 1; Examples 2 and 5).

The applicant submitted test results which suggest that the teaching of D1 which applies for p53 cannot be generalized to cover simply any TAAs. It has thus been shown that the use of a Lewis Y-specific antibody, for example, for vaccination purposes does not lead to a Lewis Y-specific immune response and thus does not permit successful immunization.

Therefore a person skilled in the art, equipped with the teachings of D1 and D3 which concern active immunization in a special case, p53, and passive immunization with anti-Ep-CAM antibodies, would not reasonably expect active immunization with said anti-Ep-CAM antibodies to be successful.

- c) D4 and D5, which are cited as "X" documents in the international search report, merely concern treatment with anti-idiotypic antibodies. D4 and D5 thus use antibodies which are not directed against the antigen and consequently these documents are not prejudicial to the novelty of the subject matter of Claim 1.

D2 (see abstract) is concerned with the induction of prophylactic and therapeutic immunity to prostate cancer. Only monoclonal antibodies directed against PSA (prostate specific antigen) are used as

THIS PAGE BLANK (USPTO)

vaccines. PSA does not appear to participate in adhesion processes.

- d) The intermediate publication WO-A-99/65523 (priority date: 15 June 1998; filing date: 15 June 1999; publication date: 23 December 1999) discloses the treatment of prostate cancer by administration of anti-prostate antigen antibody vaccines. Thus that document is likewise not relevant to the assessment of the subject matter of the current claims.
4. Claims 2 to 9 meet the novelty and inventive step requirements of PCT Article 33(2) and (3) owing to their dependence on Claim 1.
5. The term "fine bonding specificity", used in Claim 5, for example, is unclear to a person skilled in the relevant technical field (see D6, for example).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/00174

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to the requirements of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description did not cite D1 and D3 and it did not briefly outline the relevant prior art contained therein.

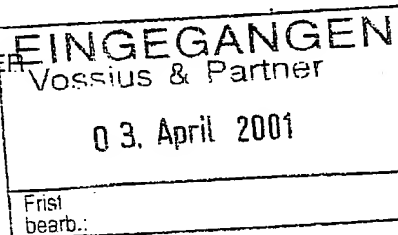
THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

PCT

An:
VOSSIUS & PARTNER
Sieberstrasse 4
D-81675 München
ALLEMAGNE



MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN
PRÜFUNGSBERICHTS
(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr) 30.03.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts
D 2923 PCT

WICHTIGE MITTEILUNG

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP00/00174

Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)
12/01/2000

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
13/01/1999


Anmelder
IGENEON GMBH et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.
4. **ERINNERUNG**
Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde

 Europäisches Patentamt
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Danti, B

Tel. +49 89 2399-8161



THIS PAGE BLANK (15/10/20)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts D 2923 PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00174	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 12/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 13/01/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61K39/395		
Anmelder IGENEON GMBH et al.		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
- ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).
- Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 10/08/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 30.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Thiele, U Tel. Nr. +49 89 2399 8643 



THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-29 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-9 eingegangen am 14/03/2001 mit Schreiben vom 13/03/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/13-13/13 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-9
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-9
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-9
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Sektion I

Sequenzprotokoll Seiten 1/2 - 2/2 sind in die Basis für diesen Bescheid / Bericht aufgenommen.

Sektion V

- 1) Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: WO 98 56416 A
D2: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN
ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, März 1998, Seite 355
D3: WO 97 15597 A
D4: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN
ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, Bd. 38, 1997, Seite 616
D5: WO 98 56419 A

- 2) Die mit Schreiben vom 13.03.01 eingereichten Änderungen stehen im Einklang mit den Erfordernissen des Art. 34(2)(b) PCT.
- 3) Der Gegenstand des Anspruchs 1 scheint im Hinblick auf den bekannten Stand der Technik neu zu sein und auf einer erfinderischen Tätigkeit zu beruhen (Art. 33(2), (3) PCT).

Die Anmelderin reichte in Antwort (Schreiben vom 06.03.01) auf den schriftlichen Erstbescheid detaillierte Argumente, Versuchsergebnisse sowie weiter Dokumente

D6 Molecular Immunology 33, 16, 1217 - 1222, 1996 (Miller)
D7 The Lancet 343, 1177- 1183, 1994 (Riethmüller et al.)
D8 Journal of Immunotherapy 15, 303, 311, 1994 (Herlyn et al.)
D9 Cancer Research 60, 1921 - 1926, 2000 (Gruber et al.)

ein.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

a) Neuheit:

D1 (Zusammenfassung; Seite 7, 1. Absatz) offenbart Antikörper, die gegen an Adhäsionsvorgänge beteiligte menschliche zelluläre Tumor-assoziierte Antigene (TAA), wie p53, NDF, EGF, CEA und Tyrosinase (siehe auch vorliegende Beschreibung, Seite 9, 2. Absatz) gerichtet sind. Das zelluläre Membranantigen EpCAM ist nicht offenbart.

D3 richtet das Hauptaugenmerk auf von Ep-CAM abgeleitete Peptide zur Therapie und Prophylaxe von Krebs. Ferner beschreibt D3 die therapeutische Vakzinierung gegen Krebs mit einem anti-Ep-CAM monoklonalen Antikörper unter Bedingungen geringer Tumorstärke (Seite 2, zweiter Absatz). Die auf Seite 2 der D3 erwähnte D7 beschreibt die passive Immuntherapie wie insbesondere aus D9 (siehe z.B. S. 1925, li. Sp.) hervor geht. Die ebenfalls auf Seite 2 der D3 erwähnte D8 beschreibt die Immunisierung mit einem anti-idiotypischen Antikörper und betrifft somit ebenfalls nicht die in der vorliegenden Anmeldung beanspruchten anti-EpCAM Antikörper.

b) Erfinderische Tätigkeit:

Die in D1 genannten Antikörper ("Ab1 anti-TAA mAB") werden zur aktiven therapeutischen, u.a. intradermalen (Seite 16, Zeile 1), Vakzinierung gegen Krebs vorgeschlagen (Seite 8, Zeile 25ff; siehe auch Seite 11, Zeilen 4 - 5). Beispielhaft ist die Induktion von anti-p53 Immunität als therapeutische und prophylaktische Vakzinierung näher ausgeführt (siehe Seite 17, Beispiel 1; Beispiele 2 und 5).

Die Anmelderin reichte Versuchsergebnisse ein, die nahelegen, daß eine Verallgemeinerung der für p53 geltenden Lehre aus D1 auf beliebige TAA nicht zulässig ist. So wurde gezeigt, daß z.B. die Verwendung eines LewisY-spezifischen Antikörpers zur Vakzinierung nicht zu einer LewisY-spezifischen Immunantwort führt und daher keine erfolgreiche Immunisierung erlaubt.

Deshalb hätte der Fachmann, ausgestattet mit den Lehren aus D1 und D3, die sich mit aktiver Immunisierung in einem speziellen Fall, p53, und mit passiver Immunisierung mit anti-EpCAM Antikörpern befassen, keine ausreichende

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Aussicht auf Erfolg in der aktiven Immunisierung mit besagten anti-EpCAM Antikörpern gesehen.

- c) D4 und D5, die im internationalen Recherchenbericht als "X" zitiert wurden, beziehen sich lediglich auf Therapie mit antiidiotypischen Antikörpern. D4 und D5 verwenden somit nicht gegen das Antigen gerichtete Antikörper und stehen folglich dem Gegenstand des Anspruchs 1 nicht neuheitsschädlich entgegen.

D2 (siehe Zusammenfassung) befaßt sich mit Induktion prophylaktischer und therapeutischer Immunität gegen Prostatakrebs. Dabei werden lediglich gegen PSA (prostate specific antigen) gerichtete monoklonale Antikörper als Impfstoffe eingesetzt. Es scheint, daß PSA nicht an Adhäsionsvorgängen beteiligt ist.

- d) Das zwischenpublizierte Dokument WO-A-9 965 523 (Prioritätsdatum: 15.06.1998; Anmeldedatum: 15.06.1999; Publikationsdatum: 23.12.1999) offenbart die Therapie von Prostatakrebs über Verabreichung von anti-Prostataantigen Antikörper-Vakzinen. Das Dokument ist somit ebenfalls nicht relevant für die Beurteilung des Gegenstands der vorliegenden Ansprüche.
- 4) Die Ansprüche 2 - 9 erfüllen die Erfordernisse der Artikel 33(2) und (3) PCT nach Neuheit und erfinderischer Tätigkeit kraft ihres Abhängigkeitsverhältnisses.
- 5) Der z.B. in Anspruch 5 verwendete Begriff "Bindungsfeinspezifität" ist für den Fachmann im betreffenden technischen Gebiet klar (siehe z.B. D6).

Sektion VII

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1 und D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Patentansprüche

1. Verwendung eines Antikörpers, der gegen das zelluläre Membranantigen Ep-CAM gerichtet ist, zur Herstellung eines Arzneimittels zur prophylaktischen und/oder therapeutischen aktiven Immunisierung gegen Krebs.
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei der Antikörper tierischen Ursprungs ist.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Antikörper ein monoclonaler Antikörper ist.
4. Verwendung nach Anspruch 3, wobei der Antikörper ein muriner monoclonaler Antikörper ist, dessen variable Region der schweren Kette die in SEQ ID NO:1 dargestellte Aminosäuresequenz ist und dessen variable Region der leichten Kette die in SEQ ID NO:2 dargestellte Aminosäuresequenz ist.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei der Antikörper dieselbe Bindungsfeinspezifität wie der in Anspruch 4 definierte Antikörper aufweist.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei zwei oder mehr Antikörper, die gegen verschiedene Epitope des Membranantigens gerichtet sind, in Kombination verwendet werden.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei das Arzneimittel weiterhin mindestens noch ein Vakzine-Adjuvans enthält.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei das Arzneimittel für die Verabreichung des Antikörpers in einer Dosierung im Bereich von 0,01 bis 4 mg Antikörper geeignet ist.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei das Arzneimittel zur Verabreichung durch subcutane, intradermale oder intramuskuläre Injektionen geeignet ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

PCT

An

VOSSIUS & PARTNER
Postfach 86 07 67
D-81634 München
GERMANY

EINGEGANGEN
Vossius & Partner

05. Juni 2000

Frist
bearb.:

30.7.

30.6.7e

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

Absendedatum
(Tag/Monat/Jahr)

30/05/2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

D 2923 PCT

WEITERES VORGEHEN

siehe Punkte 1 und 4 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00174

Internationales Anmeldedatum

(Tag/Monat/Jahr)

12/01/2000

Anmelder

IGENEON GMBH

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

Wo sind Änderungen einzureichen?

Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

Nähere Hinweise sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.

3. ☐ Hinsichtlich des Widerspruchs gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß

☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsorte der internationalen Anmeldung übermitteln worden sind.

☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von 18 Monaten seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90^{bis} bzw. 90^{ter} vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von 20 Monaten seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsorten vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahl erklärt ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Nina Vercio

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen.

Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:
"Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. "Oder" Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

"Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigelegt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts D 2923 PCT	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/ 00174	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 12/01/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 13/01/1999
Anmelder IGENEON GMBH		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☒ in der internationalen Anmeldung in Schriftlicher Form enthalten ist.

☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 8; 9

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☒ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

REPLACED BY
19 34 AMDT

VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 05 APR 2001

WIPO

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts D 2923 PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00174	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 12/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 13/01/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK A61K39/395		
Anmelder IGENEON GMBH et al.		



- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt 1 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 10/08/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 30.03.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Thiele, U Tel. Nr. +49 89 2399 8643 

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-29 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-9 eingegangen am 14/03/2001 mit Schreiben vom 13/03/2001

Zeichnungen, Blätter:

1/13-13/13 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00174

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-9
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-9
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-9
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen
siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:
siehe Beiblatt

THIS PAGE BLANK (USPTO)



**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER
PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT**

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/00174

Sektion I

Sequenzprotokoll Seiten 1/2 - 2/2 sind in die Basis für diesen Bescheid / Bericht aufgenommen.

Sektion V

1) Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: WO 98 56416 A

D2: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN
ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, März 1998, Seite 355

D3: WO 97 15597 A

D4: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN
ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, Bd. 38, 1997, Seite 616

D5: WO 98 56419 A

2) Die mit Schreiben vom 13.03.01 eingereichten Änderungen stehen im Einklang mit den Erfordernissen des Art. 34(2)(b) PCT.

3) Der Gegenstand des Anspruchs 1 scheint im Hinblick auf den bekannten Stand der Technik neu zu sein und auf einer erfinderischen Tätigkeit zu beruhen (Art. 33(2), (3) PCT).

Die Anmelderin reichte in Antwort (Schreiben vom 06.03.01) auf den schriftlichen Erstbescheid detaillierte Argumente, Versuchsergebnisse sowie weitere Dokumente

D6 Molecular Immunology 33, 16, 1217 - 1222, 1996 (Miller)

D7 The Lancet 343, 1177- 1183, 1994 (Riethmüller et al.)

D8 Journal of Immunotherapy 15, 303, 311, 1994 (Herlyn et al.)

D9 Cancer Research 60, 1921 - 1926, 2000 (Gruber et al.)

ein.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

a) Neuheit:

D1 (Zusammenfassung; Seite 7, 1. Absatz) offenbart Antikörper, die gegen an Adhäsionsvorgänge beteiligte menschliche zelluläre Tumor-assoziierte Antigene (TAA), wie p53, NDF, EGF, CEA und Tyrosinase (siehe auch vorliegende Beschreibung, Seite 9, 2. Absatz) gerichtet sind. Das zelluläre Membranantigen EpCAM ist nicht offenbart.

D3 richtet das Hauptaugenmerk auf von Ep-CAM abgeleitete Peptide zur Therapie und Prophylaxe von Krebs. Ferner beschreibt D3 die therapeutische Vakzinierung gegen Krebs mit einem anti-Ep-CAM monoklonalen Antikörper unter Bedingungen geringer Tumorstärke (Seite 2, zweiter Absatz). Die auf Seite 2 der D3 erwähnte D7 beschreibt die passive Immuntherapie wie insbesondere aus D9 (siehe z.B. S. 1925, li. Sp.) hervor geht. Die ebenfalls auf Seite 2 der D3 erwähnte D8 beschreibt die Immunisierung mit einem anti-idiotypischen Antikörper und betrifft somit ebenfalls nicht die in der vorliegenden Anmeldung beanspruchten anti-EpCAM Antikörper.

b) Erfinderische Tätigkeit:

Die in D1 genannten Antikörper ("Ab1 anti-TAA mAB") werden zur aktiven therapeutischen, u.a. intradermalen (Seite 16, Zeile 1), Vakzinierung gegen Krebs vorgeschlagen (Seite 8, Zeile 25ff; siehe auch Seite 11, Zeilen 4 - 5). Beispielhaft ist die Induktion von anti-p53 Immunität als therapeutische und prophylaktische Vakzinierung näher ausgeführt (siehe Seite 17, Beispiel 1; Beispiele 2 und 5).

Die Anmelderin reichte Versuchsergebnisse ein, die nahelegen, daß eine Verallgemeinerung der für p53 geltenden Lehre aus D1 auf beliebige TAA nicht zulässig ist. So wurde gezeigt, daß z.B. die Verwendung eines LewisY-spezifischen Antikörpers zur Vakzinierung nicht zu einer LewisY-spezifischen Immunantwort führt und daher keine erfolgreiche Immunisierung erlaubt.

Deshalb hätte der Fachmann, ausgestattet mit den Lehren aus D1 und D3, die sich mit aktiver Immunisierung in einem speziellen Fall, p53, und mit passiver Immunisierung mit anti-EpCAM Antikörpern befassen, keine ausreichende

THIS PAGE BLANK (USPTO)



Aussicht auf Erfolg in der aktiven Immunisierung mit besagten anti-EpCAM Antikörpern gesehen.

- c) D4 und D5, die im internationalen Recherchenbericht als "X" zitiert wurden, beziehen sich lediglich auf Therapie mit antiidiotypischen Antikörpern. D4 und D5 verwenden somit nicht gegen das Antigen gerichtete Antikörper und stehen folglich dem Gegenstand des Anspruchs 1 nicht neuheitsschädlich entgegen.

D2 (siehe Zusammenfassung) befaßt sich mit Induktion prophylaktischer und therapeutischer Immunität gegen Prostatakrebs. Dabei werden lediglich gegen PSA (prostate specific antigen) gerichtete monoklonale Antikörper als Impfstoffe eingesetzt. Es scheint, daß PSA nicht an Adhäsionsvorgängen beteiligt ist.

- d) Das zwischenpublizierte Dokument WO-A-9 965 523 (Prioritätsdatum: 15.06.1998; Anmeldedatum: 15.06.1999; Publikationsdatum: 23.12.1999) offenbart die Therapie von Prostatakrebs über Verabreichung von anti-Prostataantigen Antikörper-Vakzinen. Das Dokument ist somit ebenfalls nicht relevant für die Beurteilung des Gegenstands der vorliegenden Ansprüche.
- 4) Die Ansprüche 2 - 9 erfüllen die Erfordernisse der Artikel 33(2) und (3) PCT nach Neuheit und erfinderischer Tätigkeit kraft ihres Abhängigkeitsverhältnisses.
- 5) Der z.B. in Anspruch 5 verwendete Begriff "Bindungsfeinspezifität" ist für den Fachmann im betreffenden technischen Gebiet klar (siehe z.B. D6).

Sektion VII

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1 und D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**Patentansprüche**

1. Verwendung eines Antikörpers, der gegen das zelluläre Membranantigen Ep-CAM gerichtet ist, zur Herstellung eines Arzneimittels zur prophylaktischen und/oder therapeutischen aktiven Immunisierung gegen Krebs.
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei der Antikörper tierischen Ursprungs ist.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Antikörper ein monoclonaler Antikörper ist.
4. Verwendung nach Anspruch 3, wobei der Antikörper ein muriner monoclonaler Antikörper ist, dessen variable Region der schweren Kette die in SEQ ID NO:1 dargestellte Aminosäuresequenz ist und dessen variable Region der leichten Kette die in SEQ ID NO:2 dargestellte Aminosäuresequenz ist.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei der Antikörper dieselbe Bindungsfeinspezifität wie der in Anspruch 4 definierte Antikörper aufweist.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei zwei oder mehr Antikörper, die gegen verschiedene Epitope des Membranantigens gerichtet sind, in Kombination verwendet werden.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei das Arzneimittel weiterhin mindestens noch ein Vakzine-Adjuvans enthält.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei das Arzneimittel für die Verabreichung des Antikörpers in einer Dosierung im Bereich von 0,01 bis 4 mg Antikörper geeignet ist.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei das Arzneimittel zur Verabreichung durch subcutane, intradermale oder intramuskuläre Injektionen geeignet ist.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

CLAIMS

1. Use of an antibody which is directed against a human cellular membrane antigen for the preparation of a pharmaceutical composition for the prophylactic and/or therapeutic vaccination against cancer.
2. The use of claim 1, wherein the cellular membrane antigen is a tumor-associated antigen.
3. The use claim 1 or 2, wherein the cellular membrane antigen plays a role in adhesion processes.
4. The use of any one of claims 1 to 3, wherein the cellular membrane antigen is an antigen of epithelial cells.
5. The use of any one of claims 1 to 4, wherein the cellular membrane antigen is capable of self-adhesion.
6. The use of claim 5, wherein the cellular membrane antigen is Ep-CAM, N-CAM or CEA.
7. The use of any one of claims 1 to 6, wherein the antibody is of animal origin.
8. The use of any one of claims 1 to 7, wherein the antibody is a monoclonal antibody.
9. The use of claim 8, wherein the antibody is the murine monoclonal antibody HE2.
10. The use of any one of claims 1 to 8, wherein the antibody has the same fine specificity of binding as the antibody HE2.
11. The use of any one of claims 1 to 10, wherein 2 or more antibodies which are

THIS PAGE BLANK (USPTO)

directed against different cellular membrane antigens or against different epitopes of a membrane antigen are used in combination with each other.

12. The use of any one of claims 1 to 11, wherein the pharmaceutical composition further comprises also at least one vaccine adjuvant.
13. The use of any one of claims 1 to 12, wherein the pharmaceutical composition is suitable for the administration of the antibody at a dosage in the range of 0.01 to 4 mg antibody.
14. The use of any one of claims 1 to 13, wherein the pharmaceutical composition is suitable for the administration by subcutaneous, intradermal or intramuscular injection.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

ORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ :
A61K 39/395, 39/39, A61P 35/00 // C07K 16/30 A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/41722

(43) Internationales
Veröffentlichungsdatum: 20. Juli 2000 (20.07.00)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/00174

(22) Internationales Anmeldedatum: 12. Januar 2000 (12.01.00)

(30) Prioritätsdaten:
51/99 ✓ 13. Januar 1999 (13.01.99) CH

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): IGENEON GMBH [AT/AT]; Brunner Strasse 59, A-1230 Vienna (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): ECKERT, Helmut [CH/CH]; Hohe Strasse 167, CH-4104 Oberwil (CH). LOIBNER, Hans [AT/AT]; Heimgasse 23, A-1238 Wien (AT).

(74) Anwalt: VOSSIUS & PARTNER; P.O. Box 86 07 67, D-81634 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(54) Title: USE OF ANTIBODIES FOR ANTICANCER VACCINATION

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON ANTIKÖRPERN ZUR VAKZINIERUNG GEGEN KREBS

(57) Abstract

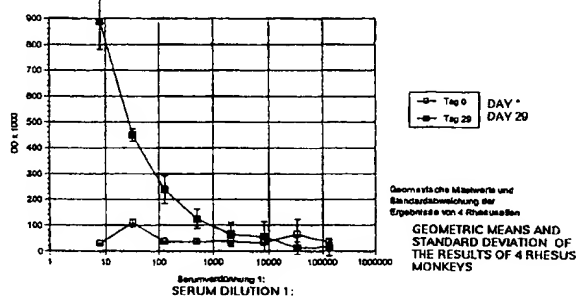
The invention relates to the use of antibodies directed against human cellular membrane antigens for vaccinations against cancer.

(57) Zusammenfassung

Beschrieben wird die Verwendung von Antikörpern, die gegen menschliche zelluläre Membranantigene gerichtet sind, zur Vakzinierung gegen Krebserkrankungen.

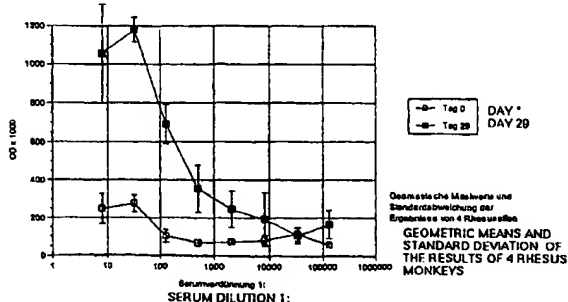
VACCINATION OF RHESUS MONKEYS WITH HE2
BONDING OF SERUM Ig TO HE2

Vakzinierung von Rhesusaffen mit HE2
Bindung von Serum Ig an HE2



VACCINATION OF RHESUS MONKEYS WITH HE2
BONDING OF SERUM Ig TO KATO III TUMOUR CELLS

Vakzinierung von Rhesusaffen mit HE2
Bindung von Serum Ig an Kato III Tumorzellen



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verwendung von Antikörpern zur Vakzinierung gegen Krebs

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Antikörpern, die gegen menschliche zelluläre Membranantigene gerichtet sind, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Vakzinierung gegen Krebs.

Mit der Entdeckung der Hybridomtechnologie ist es möglich geworden, monoclonale Antikörper (MAK) gegen verschiedenste Antigene zu generieren. Diese generell für alle biologischen Fragestellungen einsetzbare Technologie hat auch in der Krebsforschung einen wichtigen Platz eingenommen. In den letzten 20 Jahren sind MAK gegen eine Vielzahl von Tumor-assoziierten Antigenen (TAA) hergestellt worden. TAA sind Strukturen, die bevorzugt auf der Zellmembran von Tumorzellen exprimiert sind, dadurch eine Unterscheidung zu nicht-malignem Gewebe ermöglichen und daher als Zielpunkte für diagnostische und therapeutische Anwendungen auf der Basis von spezifischen MAK oder davon abgeleiteten Derivaten gesehen werden.

Direkte therapeutische Anwendungen von MAK gegen TAA beruhen auf passiven Immuntherapien, das heißt, ein MAK oder ein Derivat wird systemisch in geeigneter Menge an Krebspatienten verabreicht und übt eine therapeutische Wirkung nur aus, solange die Konzentration im Organismus dafür genügend groß ist. Die biologische Halbwertszeit solcher Agentien hängt von ihrer Struktur ab und beträgt wenige Stunden bis mehrere Tage. Daher ist es notwendig, wiederholte Applikationen vorzunehmen. Das führt bei Verwendung von xenogenen Antikörpern (z.B. murine MAK) aber zu unerwünschten Immunreaktionen, die eine mögliche therapeutische Wirkung neutralisieren und gefährliche Nebenwirkungen



(anaphylaktische Reaktionen) bedingen können. Daher können solche Immuntherapeutika nur für eine begrenzte Zeit verabreicht werden.

Einem anderen Ansatz für Immuntherapie von Krebs liegt die selektive Aktivierung des Immunsystems von Krebspatienten zugrunde, maligne Zellen zu bekämpfen. Das wird mittels verschiedenster Formen von Krebsvakzinen versucht. Dazu gehören Impfungen mit autologen oder allogenen Tumorzellen, chemisch oder molekularbiologisch modifizierten autologen oder allogenen Tumorzellen, isolierten oder mit Hilfe von chemischen oder molekularbiologischen Methoden hergestellten TAA, daraus abgeleiteten Peptiden, neuerdings auch Impfungen mit DNA, die für TAA oder daraus abgeleiteten Strukturen codieren, etc. Eine alternative Methode beruht auf der Verwendung von anti-idiotypischen Antikörpern zur Vakzinierung gegen Krebs. Geeignete anti-idiotypische Antikörper können ein TAA immunologisch nachahmen. Sie induzieren als Fremdproteine (z.B. murine Antikörper, Ziegen-Antikörper etc.) nach Vakzinierung - im Gegensatz zu den eigentlichen menschlichen Tumorantigenen, die als Selbst-Strukturen oft nur wenig immunogen sind - im Menschen eine starke Immunantwort. Daher können anti-idiotypische Antikörper als immunogener Ersatz eines Tumorantigens zur Impfung verwendet werden.

Im Unterschied zur passiven Immuntherapien mit Anti-Tumorantikörpern genügen für die aktive spezifische Krebs-Immuntherapie im Prinzip sehr kleine Mengen eines geeigneten Impfstoffes, um für Monate bis Jahre eine Immunität zu induzieren, die bei Abschwächung durch Booster-Impfungen wieder aufgefrischt werden kann. Darüberhinaus kann bei aktiver Immunisierung sowohl eine humorale als auch eine zelluläre Immunität induziert werden, deren Zusammenspiel eine effektive Schutzwirkung ergeben kann.

Zusammenfassend beruht die bisherige Verwendung von Antikörpern oder von deren Derivaten in der Krebs-Immuntherapie im wesentlichen auf zwei Prinzipien:

- Passive Therapie mit Antikörpern oder deren Derivaten, die gegen TAA gerichtet sind.
- Aktive Immunisierung (Vakzinierung) mit Antikörpern oder deren Derivaten, die gegen den Idiotyp von Antikörpern mit Spezifität gegen TAA gerichtet sind.

Im Verlauf der Entdeckung und nachfolgender Charakterisierung von verschiedensten TAA hat sich herausgestellt, daß diese wichtige Funktionen für Krebszellen haben. Sie ermöglichen den entarteten Zellen, charakteristische Eigenschaften für den malignen Phänotyp wie z.B. vermehrte Adhäsionsfähigkeit auszuüben, die für die Etablierung von Metastasen von großer Bedeutung sind. Allerdings können solche Antigene durchaus in bestimmten Stadien auch auf normalen Zellen exprimiert sein, wo sie für normale Funktionen dieser Zellen verantwortlich sind. Ohne Anspruch auf Vollständigkeit seien hier einige Beispiele für solche Antigene angeführt:

- N-CAM (Neuronal Cell Adhesion Molecule), das oft auf Tumoren neuronalen Ursprungs exprimiert ist und homophile Adhäsion bewirkt (J.Cell Biol. 118 (1992), 937).
- Das Lewis Y Kohlenhydratantigen, das auf der Mehrzahl der Tumoren epithelialen Ursprungs aufscheint, aber auch während der fötalen Entwicklung epithelialer Gewebe eine wichtige Rolle spielt. Es wurde gezeigt, daß die Expression dieses Antigens in Lungenkrebs stark mit einer ungünstigen Prognose assoziiert ist, da Lewis Y positive Krebszellen offensichtlich ein höheres metastatisches Potential haben (N. Engl. J. Med. 327 (1992), 14).
- CEA (Carcino Embryonic Antigen), das häufig auf epithelialen Tumoren des Gastro-Intestinaltraktes vorkommt und als Selbstadhäsionsmolekül identifiziert wurde (Cell 57 (1989), 327).
- Ep-CAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule), daß auf fast allen Tumoren epithelialen Ursprungs exprimiert ist, aber auch auf vielen normalen Epithelien vorkommt, das als Selbstadhäsionsmolekül charakterisiert wurde und daher als pan-epitheliales Adhäsionsantigen klassifiziert werden kann (J. Cell Biol. 125 (1994), 437).

Der vorliegenden Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde weitere Mittel und Methoden zur Verfügung zu stellen, die eine effiziente Prophylaxe gegen bzw. Therapie von Krebserkrankungen erlauben.

Diese Aufgabe wird durch die Bereitstellung der in den Ansprüchen bezeichneten Ausführungsformen gelöst.

Somit betrifft die Erfindung die Verwendung von Antikörpern, die gegen menschliche zelluläre Membranantigene gerichtet sind, zur Herstellung eines Arzneimittels zur prophylaktischen und/oder therapeutischen Vakzinierung gegen Krebs. Der Begriff "zelluläre Membranantigene" betrifft dabei Strukturen, die auf der Zellmembran von Zellen präsentiert werden. Hier sind insbesondere Rezeptoren zu nennen, wie z.B. der Transferrin-Rezeptor, oder andere Moleküle, wie z.B. E-Cadherin oder Ep-CAM.

In einer bevorzugten Ausführungsform stellt ein derartiges zelluläres Membranantigen ein Tumor-assoziiertes Antigen dar. Unter dem Begriff "Tumor-assoziiertes Antigen" wird dabei eine Struktur verstanden, die bevorzugt von Tumorzellen präsentiert wird und dadurch eine Unterscheidung zu nicht-malignem Gewebe ermöglicht. Vorzugsweise ist ein solches Tumor-assoziiertes Antigen auf bzw. in der Zellmembran einer Tumorzelle lokalisiert. Dabei ist aber nicht ausgeschlossen, daß derartige Antigene auch auf nicht-entarteten Zellen vorkommen. Bei Tumor-assoziierten Antigenen kann es sich beispielsweise um Polypeptide, insbesondere glykosylierte Proteine, oder Glykosylierungsmuster von Polypeptiden handeln. Andere Strukturen, die ein Tumor-assoziiertes Antigen darstellen können, sind z.B. Glykolipide. Hierzu gehören beispielsweise Ganglioside, wie z.B. GM2. Ferner können Tumor-assoziierte Antigene dargestellt werden durch Veränderungen der Zusammensetzung von Lipiden der Zellmembran, die für Krebszellen charakteristisch sein können.

Beispiele für Tumor-assoziierte Antigene sind N-CAM, das Lewis Y Kohlenhydratantigen, CEA und Ep-CAM, die bereits oben erwähnt wurden. Weitere Beispiele sind Sialyl Tn Kohlenhydrat, Globo H Kohlenhydrat, Ganglioside wie GD2/GD3/GM2, Prostate Specific Antigen (PSA), CA 125, CA 19-9, CA 15-3, TAG-72, EGF Rezeptor, Her2/Neu Rezeptor, p97, CD20 und CD21. Gegen alle



diese Antigene stehen monoclonale Antikörper zur Verfügung. Weitere Tumor-assoziierte Antigene werden z.B. beschrieben in DeVita et al. (Eds., "Biological Therapy of Cancer", 2. Aufl., Kapitel 3: Biology of Tumor Antigens, Lippincott Company, ISBN 0-397-51416-6 (1995)).

Unter dem Begriff "Antikörper" werden Antikörper aller Art verstanden, insbesondere polyclonale oder monoclonale oder auch chemisch, biochemisch oder molekularbiologisch hergestellte Antikörper. Verfahren zur Herstellung solcher Moleküle sind dem Fachmann geläufig. Auf die Art der Herstellung des Antikörpers kommt es nicht an. Wichtig ist lediglich seine Bindungsspezifität für ein relevantes Epitop eines zellulären Membranantigens. Bevorzugt werden monoclonale Antikörper verwendet, ganz besonders bevorzugt monoclonale Antikörper tierischen, insbesondere murinen Ursprungs. Ganz besonders bevorzugt wird der murine monoclonale Antikörper HE-2 verwendet, der wie beschrieben erzeugt werden kann oder ein Antikörper, der die gleiche Bindungsfeinspezifität wie HE2 aufweist. Der Begriff "Antikörper" umfaßt im Rahmen der vorliegenden Erfindung auch Fragmente und Derivate von Antikörpern, wobei diese Fragmente oder Derivate ein TAA erkennen. Die durch Vakzinierung mit geeigneten Antikörpern gegen TAA induzierte, therapeutisch wirksame Immunantwort ist durch die Bindungsregion dieser Antikörper, ihrem Idiotyp, determiniert. Daher können im Prinzip statt intakter Antikörper auch Fragmente oder Derivate dieser Antikörper erfolgreich zur Vakzinierung eingesetzt werden, solange diese Derivate den Idiotyp des jeweiligen Ausgangs-Antikörpers weiterhin beinhalten. Als Beispiele, jedoch nicht auf diese eingeschränkt, seien erwähnt: $F(ab)'_2$ -Fragmente, $F(ab)'$ -Fragmente, F_v -Fragmente, die entweder nach an sich bekannten biochemischen Methoden (enzymatische Spaltung) oder nach an sich bekannten Methoden der Molekularbiologie hergestellt werden können, sowie Antikörperderivate, die nach an sich bekannten chemischen, biochemischen oder molekularbiologischen Methoden hergestellt werden können. Der Begriff Derivat umfaßt dabei insbesondere auch Produkte, die erzeugt werden können durch chemische Kopplung von Antikörpern (-fragmenten) mit Molekülen, die die

Immunantwort verstärken können, wie z.B. Tetanus-Toxoid, Pseudomonas Exotoxin, Derivate von Lipid A, GM-CSF, IL-2 oder durch chemische Kopplung von Antikörpern (-fragmenten) mit Lipiden für bessere Inkorporierung in eine Liposomenformulierung. Der Begriff "Derivat" umfaßt auch molekularbiologisch hergestellte Fusionsproteine von Antikörpern (-fragmenten) mit Polypeptiden, die die Immunantwort verstärken können, wie GM-CSF, IL-2, IL-12, C3d etc. Die Antikörper können erfindungsgemäß selbstverständlich auch in Kombination eingesetzt werden. D.h. es können zwei oder mehr Antikörper, die verschiedene Membranantigene oder verschiedene Epitope desselben Membranantigens erkennen verabreicht werden. Dabei können die verschiedenen Antikörper jeweils gleichzeitig (gemeinsam oder getrennt) oder nacheinander verabreicht werden. Krebszellen exprimieren häufig mehrere TAA gleichzeitig, gegen die für Vakzinierungen geeignete Antikörper zur Verfügung stehen oder generiert werden können. Für eine verstärkte, unter Umständen synergistische Wirkung der induzierten Immunantwort, um die potentielle Gefahr der Selektion von Antigen-negativen Varianten zu minimieren und um möglicher Tumorzellheterogenität entgegenzuwirken, kann es günstig sein, eine Kombination von zwei oder mehreren geeigneten Antikörpern oder deren Fragmenten oder Derivaten gleichzeitig zur Vakzinierung zu verwenden.

Der Begriff "Vakzinierung" bedeutet im Rahmen der vorliegenden Erfindung eine aktive Immunisierung, d.h. eine Induktion einer spezifischen Immunantwort durch Verabreichung (z.B. subkutan, intradermal, intramuskulär, ev. auch oral, nasal) von geringen Mengen eines Antigens (eines Stoffes, der vom Immunsystem des vakzinierten Individuums als fremd und damit immunogen erkannt wird) in einer geeigneten immunogenen Formulierung. Das Antigen wird also als "Trigger" für das Immunsystem benutzt, um eine für das Antigen spezifische Immunantwort aufzubauen. Die dazu benötigten Mengen des Antigens können grundsätzlich sehr gering sein (manche Impfstoffe beinhalten nur ca. 5-10 µg Antigen pro Impfdosis). Charakteristisch für eine aktive Immunisierung ist eine in großen Bereichen nur wenig Mengen-abhängige Dosis Wirkungskurve. Das heißt, daß die Immunantwort



in einem weiten Dosisbereich in etwa gleich stark ausfällt. Daraus folgt, daß bei einer Vakzinierung der gewünschte Effekt, also die Induktion einer Immunantwort, bereits mit sehr geringen Antigenmengen erzielt werden kann, aber auch mit wesentlich höheren Antigenmengen in vergleichbarer Weise erzielt werden kann. Es ist aber naturgemäß wünschenswert, grundsätzlich mit möglichst niedrigen Dosierungen zu arbeiten, insbesondere im Hinblick auf Nebenwirkungen, Materialkosten etc., was bei einer Vakzinierung zum Tragen kommt.

Eine Vakzinierung im Sinne der vorliegenden Erfindung kann grundsätzlich sowohl im therapeutischen Sinne als auch im prophylaktischen Sinne (wie bei allen antimikrobiellen Impfstoffen) durchgeführt werden. Das heißt, die erfindungsgemäße Vakzinierung gegen Krebs kann sowohl als therapeutische als auch als prophylaktische Anwendung verstanden werden. Somit kann durch die Vakzinierung von nicht an Krebs erkrankten Personen mit geeigneten Antikörpern gegebenenfalls ein vorbeugender Schutz gegen den Ausbruch einer Krebserkrankung erzielt werden. Für eine solche prophylaktische Vakzinierung kommen insbesondere, wenn auch nicht ausschließlich, Personen in Frage, die ein erhöhtes Risiko aufweisen, eine Krebserkrankung zu entwickeln.

Die erfindungsgemäße Verwendung unterscheidet sich substantiell von den beiden zuvor genannten, bisher bekannten prinzipiellen therapeutischen Anwendungsmöglichkeiten von Antikörpern zur Behandlung von Krebs und erlaubt eine unerwartet wirksame Behandlung.

Die Bindungsregion eines Antikörpers gegen ein TAA kann nach dem "Schlüssel-Schloß-Prinzip" ein strukturell komplementäres Abbild des Bindungs-Epitopes des jeweiligen TAA's darstellen. Das bedeutet, daß ein solcher Antikörper in seinem Idiotyp eine Strukturinformation des Epitopes des TAA trägt, gegen das er gerichtet ist. Wird daher ein Krebspatient mit einem geeigneten, immunogenen Antikörper gegen ein TAA geimpft (also z.B. mit einem murinen MAK gegen ein TAA), werden dagegen im Patienten Antikörper gebildet, die zum Teil gegen den Idiotyp des als Vakzine eingesetzten Antikörpers gerichtet sind und nach dem "Schlüssel-Schloß-Prinzip" das Epitop des TAA strukturell nachahmen können.



Daraus folgt, daß durch eine solche Impfung im Krebspatienten gewissermaßen lösliche Varianten des Epitopes des TAA generiert werden, die als aktiv induzierte autologe Antikörper für lange Zeiträume wirken können und deren Titer in geeigneten Abständen durch Booster-Impfungen wieder aufgefrischt werden können.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das menschliche zelluläre Membranantigen eine Struktur, die eine Rolle spielt bei Adhäsionsvorgängen. Adhäsionsvorgänge sind dabei vorzugsweise Zell-Zell-Interaktionen, wobei Liganden bzw. Rezeptoren auf der Zelloberfläche involviert sind. Adhäsionsmoleküle sind demnach der Zell-Zell-Interaktion dienende Liganden bzw. Rezeptoren auf der Zelloberfläche. Eine Untergruppe von solchen Adhäsionsmolekülen sind die Selbstadhäsionsmoleküle. Diese haben die Eigenschaft, an sich selbst binden zu können.

Die physiologische Wirkung einer durch Impfung mit einem Antikörper gegen ein TAA induzierten Immunantwort hängt naturgemäß von der Funktion des jeweiligen TAA ab. Hat das TAA beispielsweise eine Funktion als Rezeptor für die Adhäsion von Tumorzellen, insbesondere an einen Liganden auf Endothelzellen des Gefäßsystems (eine solche Eigenschaft ist wichtig für die Fähigkeit von disseminierten Krebszellen, aus dem Gefäßsystem auszutreten und sich in Gewebe festzusetzen, um dort eine Metastase auszubilden), dann wird diese Adhäsionsfähigkeit durch Vakzinierung mit einem geeignetem Antikörper gegen dieses TAA herabgesetzt, weil im Kreislauf und im Gewebe permanent induzierte Antikörper vorhanden sind, die die Interaktion des TAA mit seinem Liganden kompetitieren, da sie das TAA in löslicher Form nachahmen.

Allgemein ausgedrückt, kann nach den obenstehenden Ausführungen durch Vakzinierung mit geeigneten Antikörpern gegen TAA, die eine Funktion für die Malignität von Tumorzellen haben, erreicht werden, daß die induzierte Immunantwort mit der Funktion des TAA in dessen Wechselwirkung mit seinem Liganden interferiert und diese erschwert oder verhindert. Das bedeutet, daß Krebszellen für den malignen Phänotyp wichtige Eigenschaften nicht oder nicht



ausreichend ausüben können, wodurch die Entwicklung der Erkrankung verlangsamt oder gestoppt werden kann und insbesondere in frühen Stadien die Ausbildung von Metastasen unterdrückt werden kann.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das zelluläre Membranantigen zur Selbstadhäsion fähig, d.h. bestimmte Epitope des Antigens sind für die homophile Bindung mit einem gleichen Antigen auf einer anderen Zelle verantwortlich. Beispiele für solche Antigene sind unter anderem N-CAM (Neuronal Cellular Adhesion Molecule), CEA (Carcino Embryonic Antigen) und Ep-CAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule). Antikörper, die gegen Epitope von Selbstadhäsionsantigenen gerichtet sind, welche in diese Funktion involviert sind, können nach den obenstehenden Ausführungen eine komplementäre Strukturinformation eines solchen Epitopes tragen. Daher kann, entsprechend den obenstehenden Ausführungen, durch Vakzinierung mit solchen Antikörpern die Ausbildung von Antikörpern induziert werden, die die Eigenschaften dieser Selbstadhäsion in der Bindungsreaktion tragen. Das bedeutet, daß solche induzierten Antikörper wiederum an dem Selbstadhäsionsantigen binden können, da in einem solchen Fall Rezeptor und Ligand identisch sind. Damit kann durch Impfung von Krebspatienten mit geeigneten Antikörpern gegen Selbstadhäsionsantigene eine Immunantwort induziert werden, die wiederum direkt an Tumorzellen bindet und dadurch vielfältige therapeutische Wirkungen auslöst. Einerseits wird die für maligne Zellen wichtige Fähigkeit der Selbstadhäsion blockiert und andererseits können durch die Bindung der induzierten Antikörper an die Krebszellen humane Effektorfunktionen wie Komplement-abhängige Lyse und/oder Lyse durch Aktivierung von zytotoxischen Effektorzellen ausgelöst werden, die zur Zerstörung der Krebszellen führen.

Durch alle oben genannten Mechanismen und Wirkungen kann die Vakzinierung von Krebspatienten mit geeigneten Antikörpern gegen TAA die Ausbildung neuer Metastasen unterdrücken und die Disseminierung der Erkrankung zumindestens verlangsamen. In frühen Krankheitsstadien, zum Beispiel nach erfolgreicher

Operation eines Primärtumors (adjuvantes Stadium), werden durch solche Impfungen restliche, disseminierte Tumorzellen daran gehindert, sich als neue Metastasen zu etablieren. Dadurch kann die rückfallsfreie Lebensspanne und damit auch die Gesamtüberlebenszeit solcher Patienten verlängert werden. Durch solche Impfungen und in geeigneten Abständen durchgeführte Auffrischungsimpfungen kann gegebenenfalls ein lebenslanger Schutz vor der Ausbildung von Metastasen erreicht werden. Von besonderem Interesse sind Vakzinierungen von Krebspatienten mit geeigneten Antikörpern gegen ein Selbstadhäsions-TAA, da in diesen Fällen, wie oben beschrieben, durch einen zusätzlichen direkten Angriff der induzierten Immunantwort auf Tumorzellen eine verstärkte therapeutische Wirkung möglich ist.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform enthält das gemäß der erfindungsgemäßen Verwendung hergestellte Arzneimittel neben dem Antikörper mindestens ein bei der Formulierung von Vakzinen übliches Adjuvans. Durch solche Adjuvantien kann die Immunantwort verstärkt werden. Als Beispiele für Adjuvantien, jedoch nicht auf diese eingeschränkt, seien erwähnt: Aluminiumhydroxid (Alu-Gel), Derivate von Lipopolysaccharid, Bacillus Calmette Guerin (BCG), Liposomenbereitungen, Formulierungen mit zusätzlichen Antigenen, gegen die das Immunsystem bereits eine starke Immunantwort gemacht hat, wie z.B. Tetanus Toxoid, Pseudomonas Exotoxin, oder Bestandteile von Influenza-Viren, gegebenenfalls in einer Liposomenbereitung, biologische Adjuvantien wie Granulozyten-Makrophagen stimulierender Faktor (GM-CSF), Interleukin 2 (IL-2) oder Gamma Interferon ($\text{IFN}\gamma$).

In einer anderen bevorzugten Ausführungsform ist das gemäß der erfindungsgemäßen Verwendung hergestellte Arzneimittel geeignet für eine Verabreichung zur Impfung in einer Dosierung von 0,01 bis 4 mg Antikörper, vorzugsweise von 0,5 mg.

Die Impfung kann durch einmalige Applikation der oben angegebenen Dosierung erfolgen. Vorzugsweise erfolgt sie jedoch durch wiederholte Verabreichungen. Die



Zahl der Wiederholungen liegt dabei im Bereich von 1 bis 12 pro Jahr, besonders bevorzugt im Bereich von 4 bis 8 pro Jahr. Die Dosierung kann dabei gleichbleiben oder abnehmen.

Auffrischungsimpfungen können dabei in regelmäßigen Abständen, prinzipiell lebenslang, durchgeführt werden. Geeignete Intervalle liegen hierbei im Bereich von etwa 6 bis zu 24 Monaten und können durch Verfolgung der Titer der induzierten Antikörper festgelegt werden (eine Auffrischung sollte erfolgen, sobald die Titer der induzierten Antikörper deutlich abgefallen sind).

Die Verabreichung des Antikörpers kann nach dem Fachmann bekannten Methoden erfolgen. Vorzugsweise ist das Arzneimittel enthaltend den Antikörper geeignet für eine subcutane, intradermale oder intramuskuläre Verabreichung.

Die vorliegende Erfindung betrifft ferner die Verwendung von Antikörpern, die ein Tumor-assoziiertes Antigen erkennen, zur Vakzinierung gegen Krebserkrankungen, sowie ein Verfahren zur Behandlung von Krebserkrankungen durch Vakzinierung, wobei einem Patienten eine zur Vakzinierung ausreichende Menge an einem oder mehreren Antikörpern, die ein TAA erkennen, verabreicht wird. Für die Definitionen und bevorzugten Ausführungsformen gilt das bereits oben im Zusammenhang mit der erfindungsgemäßen Verwendung Gesagte.

Die Verwendung von Antikörpern gegen TAA, oder von deren Derivaten oder Fragmenten als Vakzinen unterscheidet sich substantiell von den bekannten Anwendungen solcher Anti-TAA Antikörper für die passive Immuntherapie, einige wesentliche Vorteile der erfindungsgemäßen Verwendung gegenüber der passiven Antikörper-Immuntherapie sind wie folgt zusammengefaßt:

Antikörper gegen TAA zur passiven Immuntherapie von Krebs:

- Hohe Dosis (≥ 100 mg / intravenöse Infusion)



- Kurze Wirkung durch Elimination des Wirkstoffes
- Xenogene Antikörper unerwünscht wegen Immunogenität
- Therapiedauer insbesondere bei xenogenen Antikörpern wegen der Induktion einer Immunantwort und der dadurch entstehenden Gefahr von anaphylaktischen Reaktionen bei wiederholter Anwendung limitiert

Antikörper gegen TAA zur prophylaktischen und/oder therapeutischen Vakzinierung gegen Krebs:

- Niedrige Dosis (< 1 mg/Impfung; subcutane, intradermale oder intramuskuläre Injektion)
- Lang andauernde Wirkung der direkt induzierten Immunantwort
- Xenogene Antikörper erwünscht, da die Wirkung auf Immunogenität beruht
- Behandlungsdauer unlimitiert (Auffrischungsimpfungen immer wieder möglich)

Im folgenden werden Experimente beschrieben, die belegen, daß die Vakzinierung mit einem bestimmten murinen MAK (HE2), der gegen das Selbstadhäsions-TAA Ep-CAM gerichtet ist, oder die Vakzinierung mit seinem F(ab)₂-Fragment, direkt zur Induktion von Antikörpern führt, die selektiv auf menschlichen Tumorzellen binden, die dieses Antigen exprimieren. Damit wird beispielhaft, aber ohne jede Einschränkung gezeigt, daß durch die Vakzinierung mit geeigneten Antikörpern gegen ein Selbstadhäsions-TAA, oder deren Derivaten, die zumindestens den Idiotyp des Ausgangsantikörpers enthalten, eine Immunantwort induziert wird, die therapeutische Wirksamkeit bei Krebserkrankungen haben kann.

Der murine monoklonale Antikörper HE2 wurde dafür nach an sich beschriebenen Standardverfahren der Hybridomtechnologie generiert (siehe z.B. H. Zola. Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques. CRC Press, Inc. ISBN 0-8493-6476-0; 1988) Balb/c-Mäuse wurden mit menschlichen Kolorektal-Krebszellen nach Standardprotokollen immunisiert. Die Milzzellen wurden mit der Maus-Myelomlinie P3X63Ag8 fusioniert und Hybridome selektioniert, die Antikörper produzieren, die selektiv an humane kolorektale Krebszellen, aber nicht an



Melanomzellen binden. Letztlich wurde ein Hybridom ausgewählt, das einen IgG2a/kappa Antikörper sezerniert. Dieser Antikörper (HE2) bindet an Ep-CAM, wie z.B. durch Westernblotanalyse mit Membranpräparationen von KATO III Magenkrebszellen im Vergleich mit einem bekannten anti-Ep-CAM Antikörper (KS1-4) gezeigt werden kann.

Die Aminosäuresequenzen der variablen Regionen des MAK HE2 sind wie folgt:
Schwere Kette:

QVQLQQSGAELVRPGTSVKVSCKASGYAFTNYLIEWVKQRPGQGLEWIGVINPG
SGGTNYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSDDSAVYFCARDGPWFAYWG
QGTLVTVSA (SEQ ID NO: 1)

Leichte Kette:

NIVMTQSPKSMMSVGERVTLTCKASENVVTVSWYQQKPEQSPKLLIYGASNR
YTGVPDRFTGSGSATDFTLTISVQAEDLADYHCGQGYSYPYTFGGGTKLEIK
(SEQ ID NO. 2)

Die Figuren zeigen:

- Figur 1** zeigt die Inhibierung *in vitro* der Selbstadhäsion der kleinzelligen Lungenkrebslinie SW2 durch den MAK HE2.
- Figur 2** zeigt die Selbstadhäsion *in vitro* der human kleinzelligen Lungenkrebslinie SW2 ohne Einfluß des MAK HE2, als Kontrolle zu dem in Figur 1 dargestellten Experiment.
- Figur 3** zeigt die Induktion einer Antikörperimmunantwort gegen HE2 nach Vakzinierung von Ziegen mit dem F(ab)'2-Fragment von HE2, gemessen in einem ELISA.
- Figur 4** zeigt die Induktion einer Antikörperimmunantwort gegen Ep-CAM positive human Magenkrebszellen (Kato III) nach Vakzinierung von



Ziegen mit dem F(ab)'2-Fragment von HE2, gemessen in einem Zell-ELISA.

Figur 5 zeigt das Fehlen einer Antikörperimmunantwort gegen Ep-CAM negative humane Melanomzellen (WM9) nach Vakzinierung von Ziegen mit dem F(ab)'2-Fragment von HE2, gemessen in einem Zell-ELISA, als Kontrolle zu dem in Figur 4 dargestellten Experiment.

Figur 6 zeigt die Bindung einer affinitätsgereinigten Antikörperfraktion aus Serum von Ziegen, die mit dem F(ab)'2-Fragment von HE2 vakziniert wurden, an Ep-CAM positive humane Magenkrebszellen (Kato III), gemessen in einem Zell-ELISA.

Figur 7 zeigt das Fehlen der Bindung einer affinitätsgereinigten Antikörperfraktion aus Serum von Ziegen, die mit dem F(ab)'2-Fragment von HE2 vakziniert wurden, an Ep-CAM negative humane Melanomzellen (WM9), gemessen in einem Zell-ELISA, als Kontrolle zu dem in Figur 6 dargestellten Experiment.

Figur 8 zeigt die Induktion einer Antikörperimmunantwort gegen HE2 nach Vakzinierung von Rhesusaffen mit 0,5 mg an Aluminiumhydroxid adsorbiertem HE2, gemessen in einem ELISA.

Figur 9 zeigt die Induktion einer Antikörperimmunantwort gegen Ep-CAM positive humane Magenkrebszellen (Kato III) nach Vakzinierung von Rhesusaffen mit 0,5 mg an Aluminiumhydroxid adsorbiertem HE2, gemessen in einem Zell-ELISA.

Figur 10 zeigt die im Rahmen einer Rhesusaffen-Toxizitätsstudie mit HE2 gefundene Induktion einer Antikörperimmunantwort gegen HE2 nach Vakzinierung einer Gruppe von Rhesusaffen mit 0,5 mg an Aluminiumhydroxid adsorbiertem HE2, sowie das Fehlen einer Immunantwort gegen HE2 nach Behandlung einer anderen Gruppe von Rhesusaffen mit einer Aluminiumhydroxidformulierung ohne Antigen (Plazebo), gemessen in einem ELISA.

Figur 11 zeigt beispielhaft die im Rahmen der Rhesusaffen-Toxizitätsstudie mit HE2 gefundene Induktion einer Antikörperimmunantwort gegen

Ep-CAM positive humane Magenkrebszellen (Kato III), gemessen in einem Zell-ELISA.

Figur 12 zeigt die Induktion einer Antikörperimmunantwort gegen Ep-CAM positive humane Magenkrebszellen (Kato III) nach wiederholter Vakzinierung eines Darmkrebspatienten mit je 0,5 mg an Aluminiumhydroxid adsorbiertem HE2, gemessen in einem Zell-ELISA.

Figur 13 zeigt die Induktion einer Serum-Zytotoxizität gegen Ep-CAM positive humane Magenkrebszellen (Kato III) nach wiederholter Vakzinierung eines Darmkrebspatienten mit je 0,5 mg an Aluminiumhydroxid adsorbiertem HE2, gemessen in einem Zell-Lyse-Experiment.

Die folgenden Beispiele sollen die vorliegende Erfindung weiter erläutern, aber nicht einschränken:

Um zu zeigen, daß der murine MAK HE2 an einem Epitop des Selbstadhäsionsantigens Ep-CAM bindet, das in die homophile Bindung involviert ist, wurde der Einfluß von HE2 auf die Selbstadhäsionsfähigkeit der humanen Zelllinie SW2 untersucht. Diese kleinzellige Lungenkarzinomlinie neigt dazu, sich in Kultur in vitro nach vorhergehender Vereinzelung innerhalb von einigen Stunden zu Zellklustern zusammenzuschließen. Die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 1. Wie aus den Figuren 1 und 2 ersichtlich ist, wird durch die Zugabe von HE2 die Ausbildung von Zellklustern weitestgehend verhindert. Damit wird bewiesen, daß HE2 an ein Epitop von Ep-CAM bindet, das in die homophile Bindung dieses Membranproteines involviert ist.

Um die direkte humorale Immunantwort auf die Vakzinierung mit dem F(ab)'₂-Fragment des murinen MAK HE2 untersuchen zu können, wurden Ziegen mit diesem Fragment immunisiert. Das Fragment wurde nach an sich bekannten und beschriebenen Methoden durch Spaltung von HE2 mit Pepsin hergestellt und gereinigt. Die Immunisierung der Ziegen ist in Beispiel 2 beschrieben.

Zunächst wurde das gewonnene und gepoolte Ziegen-Immunsrum im Vergleich zu einem Prä-Serum auf Immunglobuline untersucht, die gegen den MAK HE2 gerichtet sind, um die Total-Immunantwort der vakzinierten Ziegen zu bestimmen. Diese Untersuchung wurde mit Hilfe eines ELISA Tests durchgeführt, die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 3. Das Ergebnis dieses Experimentes ist in Figur 3 dargestellt: Die Ziegen haben durch die Vakzinierungen mit dem $F(ab)'_2$ -Fragment des MAK HE2 eine starke Immunantwort dagegen aufgebaut, während in einem Prä-Serum keine Antikörper gegen HE2 gefunden werden.

Als nächstes wurde untersucht, ob sich in dem Ziegen-Immunsrum Immunglobuline nachweisen lassen, die an humane Krebszellen binden, die das TAA exprimieren, gegen das der MAK HE2 gerichtet ist (Ep-CAM). Dafür wurde die KATO III Magenkrebszelllinie herangezogen. Als Kontrolle wurde auch die Bindung an eine humane Zelllinie getestet, die Ep-CAM nicht exprimiert (WM9 Melanomzellen). Diese Untersuchungen wurden mit Hilfe von Zell-ELISA Tests durchgeführt, die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 4. Das Ergebnis dieser Experimente ist in den Figuren 4 und 5 dargestellt: Das Ziegen-Immunsrum enthält Immunglobuline, die stark auf den Ep-CAM positiven KATO-Zellen binden, während keine Bindung auf den Ep-CAM negativen WM9-Zellen nachgewiesen wird. Im Prä-Serum befinden sich keine Antikörper, die an diese Zellen binden. Dieses sehr überraschende Ergebnis zeigt, daß durch Vakzinierung mit $HE2-F(ab)'_2$ Fragment entstandene Antikörper tatsächlich in der Lage sind, selbst wieder an Zellen zu binden, die das TAA exprimieren, das HE2 erkennt. Danach konnte die Funktion des TAA zur Selbst-Adhäsion auf diese durch die Impfung mit HE2 entstandenen Antikörper übertragen werden, wie zuvor ausführlich erläutert wurde.

Um zu beweisen, daß die in den Ziegen durch Impfung mit dem $F(ab)'_2$ -Fragment von HE2 gegen den Idiotyp dieses MAK entstandenen Antikörper tatsächlich



diejenigen sind, die an die KATO-Zellen binden, wurde der anti-idiotypische Anteil dieser induzierten Antikörper mit Hilfe einer Sequenz von Immunaффinitätschromatographien spezifisch aus dem Ziegen-Immunserum gereinigt, wie grundsätzlich beschrieben (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81 (1984), 216). Die Sequenz der Reinigungsschritte ist in Beispiel 5 noch einmal zusammengefaßt.

Diese affinitätsgereinigten Ziegenantikörper wurden wieder auf ihre Bindung an die Ep-CAM positiven KATO-Zellen sowie an die Ep-CAM negativen WM9-Zellen untersucht, die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 6. Das Ergebnis dieser Experimente ist in den Figuren 6 und 7 dargestellt: Das Ziegen-IgG, das gegen den Idiotyp von HE2 gerichtet ist, bindet stark an die Ep-CAM positiven KATO-Zellen, während unspezifisches Ziegen-IgG kaum bindet. Die Bindung des affinitätsgereinigten spezifischen Ziegen IgG an die Ep-CAM negativen WM9-Zellen unterscheidet sich hingegen nicht von der des unspezifischen Ziegen-IgG. Damit ist bewiesen, daß die Fraktion der Antikörper, die durch Vakzinierung mit dem F(ab)'₂-Fragment von HE2 gegen den Idiotyp dieses Antikörpers direkt entstanden ist, diejenigen Antikörper enthält, die an den Krebszellen binden, die das TAA exprimieren, das HE2 erkennt. Durch dieses Experiment ist auch schlüssig gezeigt, daß die durch Vakzinierung mit HE2 induzierten Antikörper gegen Ep-CAM positive Zellen nicht durch eine doppelte autologe idiotypische Netzwerkkaskade entstanden sind, wie in einigen Publikationen postuliert worden ist (siehe z.B.: Cancer Immunol Immunother 42 (1996), 81-87.). Solche anti-anti-idiotypischen Antikörper (Ab3) könnten nämlich in keiner Weise durch Affinitätschromatographie an einer Ab1 Säule (=HE2) gereinigt werden, da sie entsprechend dem idiotypischen Netzwerk nicht an Ab1, sondern nur an Ab2 binden können.

Aufgrund der oben dargestellten Ergebnisse der Immunisierung von Ziegen mit dem F(ab)'₂-Fragment von HE2 wurden Vakzinierungsstudien auch mit Rhesusaffen durchgeführt, um die immunologischen Resultate in einer dem

Menschen nahestehenden Spezies zu bestätigen. Für diese Experimente wurde der gesamte murine MAK HE2 als Immunogen verwendet. Es wurde angenommen, daß der murine Fc Teil als großes Fremdprotein die Immunantwort auch gegen den Idiotyp verstärkt (Carrier-Effekt). Um mögliche lokale Nebenwirkungen zu vermeiden, wurde Aluminiumhydroxid als mildes Adjuvans verwendet. Die Herstellung der Formulierung für diese Impfversuche wird in Beispiel 7 beschrieben.

Vier Rhesusaffen wurde die in Beispiel 7 beschriebene Formulierung subkutan in den Rücken injiziert (0,5 mg HE2 = 0,5 ml pro Impfung, 2 mal verabreicht im Abstand von 4 Wochen). Zu mehreren Zeitpunkten wurde Blut zur Serumgewinnung abgenommen.

Zunächst wurde die Immunantwort gegen HE2 in einem ELISA gemessen. Die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 8. Wie in Figur 8 gezeigt wird, werden bereits am Tag 29 deutliche Titer von Antikörpern gegen HE2 gemessen.

Weiters wurde untersucht, ob durch die Impfungen Antikörper induziert werden, die an KATO III Zellen binden. Für diese Tests wurde ein Zell-ELISA eingesetzt, die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 9. Wie in Figur 9 gezeigt wird, sind bereits am Tag 29 in allen Tieren Antikörper induziert, die auf Ep-CAM positiven Kato III Tumorzellen binden.

In weiterer Folge wurden im Rahmen einer Toxizitätsstudie mit Rhesusaffen vier Tiere mit an Aluminiumhydroxid adsorbierten HE2 geimpft. Vier weitere Rhesusaffen erhielten als Placebo nur Aluminiumhydroxid. Die Herstellung der Formulierungen ist in den Beispielen 10 und 11 beschrieben. Den Rhesusaffen wurde insgesamt 4 mal je 0,5 ml der jeweiligen Formulierung (Wirkstoff oder Placebo) subkutan in den Rücken injiziert (Tage 1, 15, 29 und 57). Vor Beginn der



Studie und zu verschiedenen Zeiten während der Behandlungen wurde Blut für Serumgewinnung abgenommen.

Zunächst wurde wieder die Immunantwort gegen HE2 in einem ELISA gemessen. Die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 8. Wie in Figur 10 gezeigt wird, haben alle vier Rhesusaffen aus der HE2-Gruppe bereits nach einer Impfung eine deutliche humorale Immunantwort gegen HE2 aufgebaut, die durch die zweite Impfung noch verstärkt wird, während die Rhesusaffen aus der Plazebogruppe keinerlei Erhöhung der Titer von Antikörpern gegen HE2 aufweisen.

Diese Befunde wurden weiters durch Immunaффinitätsreinigungen der Seren Tag 43 der Rhesusaffen der HE2-Gruppe bestätigt. Die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 12. Wie in folgender Tabelle gezeigt wird, haben alle vier Affen am Tag 43 in ihrem Serum eine starke IgG-Immunantwort gegen HE2 aufgebaut (sekundäre Immunantwort), der IgM-Anteil ist hingegen mit dem der Präseren vergleichbar.

Affe	Tag	$\mu\text{g} / \text{ml}$ IgM gegen	$\mu\text{g} / \text{ml}$ IgG gegen
9206m	-14	7,7	2,8
	43	16,3	135,2
9599m	-14	17,9	2,5
	43	25,4	449,3
8415f	-14	16,0	3,2
	43	22,5	159,9
9139f	-14	5,3	5,0
	43	10,3	69,8

Es wurde auch die Induktion von Antikörpern gegen Ep-CAM positive Kato III Zellen untersucht. Für diese Tests wurde wieder ein Zell-ELISA eingesetzt, die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 9. Wie in Figur 11 beispielhaft gezeigt wird, haben Rhesusaffen aus der HE2-Gruppe bereits am Tag 29 Antikörper gegen Kato III Zellen entwickelt.

In weiterer Folge und aufgrund der oben dargestellten Ergebnisse der Vakzinierung von Ziegen und Rhesusaffen wurde ein Darmkrebspatient mit Metastasen (Dukes D) im Sinne einer Einzelbeobachtung mit dem MAK HE2, adsorbiert an Aluminiumhydroxid, geimpft. Die Herstellung der dafür verwendeten Formulierung ist in Beispiel 7 beschrieben. Diesem Patienten wurden je 0,5 ml dieser Formulierung (entspricht 0,5 mg HE2) insgesamt 4 mal subkutan in die oberen Extremitäten injiziert (Tag 1, 50, 78, 114). Vor jeder Impfung und am Tag 128 wurde Blut zur Serumgewinnung abgenommen. Es wurde zunächst untersucht, ob durch die Impfungen Antikörper induziert werden, die an KATO III-Zellen binden. Für diese Tests wurde wieder der Zell-ELISA eingesetzt, die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 9. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Figur 12 gezeigt. Durch die Impfungen werden in diesem Krebspatienten offensichtlich hohe Titer von Antikörpern induziert, die an KATO III Zellen binden.

Weiters wurde untersucht, ob die durch die Vakzinierung mit HE2 induzierten Antikörper ex vivo einen zytotoxischen Effekt gegen KATO III Krebszellen vermitteln. Zu diesem Zweck wurden KATO III Zellen mit Prä- und Immunsereen dieses Krebspatienten inkubiert, um eine durch die induzierten Antikörper mediierte Komplement abhängige Lyse zu zeigen. Die experimentelle Beschreibung befindet sich in Beispiel 13.

Die Ergebnisse sind in Figur 13 dargestellt. Die durch die Impfung mit HE2 induzierten Antikörper sind offensichtlich in autologem Patientenserum in der Lage, mittels Komplement-abhängiger Lyse Ep-CAM positive KATO III-Zellen zu zerstören.

Auf Grund der oben beschriebenen Experimente ist beispielhaft gezeigt, daß die Vakzinierung mit geeigneten Antikörpern gegen ein Selbstadhäsions-TAA wie z.B. Ep-CAM, oder deren Derivaten mit gleichem Idiotyp wie die jeweiligen Ausgangsantikörper, eine humorale Immunantwort auslöst, die selektiv auf Tumorzellen bindet, die dieses Selbstadhäsions-TAA exprimieren. Die induzierten



Antikörper können ein zytotoxisches Potential gegen solche Tumorzellen aufweisen. Eine Vakzinierung mit einem solchen Antikörper kann damit zu einer therapeutischen Wirkung bei Krebserkrankungen führen.

Beispiele

Verwendete Materialien:

Mikrotiterplatten:	Immuno Plate F96 MaxiSorp (Nunc) für ELISA Cell Culture Cluster (Costar; Cat.Nr. 3598) für Zell-ELISA
Zelllinien:	SW2: menschliche kleinzellige Lungenkarzinomlinie, Ep-CAM positiv KATO III: menschliche Magenkrebszelllinie, Ep-CAM positiv (ATCC HTB 103) WM 9: menschliche Melanomzelllinie, Ep-CAM negativ
Kopplungspuffer:	0,1 M NaHCO_3 0,5 M NaCl pH-Wert 8,0
Reinigungspuffer A:	PBS def 0,2 M NaCl pH-Wert 7,2
Reinigungspuffer B:	0,1 M Glycin / HCl 0,2 M NaCl pH-Wert 2,9
Medium A:	RPMI 1640 + 2 g/l NaHCO_3

100 U/ml Penicillin G
100 µg/ml Streptomycinsulfat
4 mM Glutamin
10 % foetales Kälberserum (hitzeinaktiviert)

Bindungspuffer: 15 mM Na₂CO₃
35 mM NaHCO₃
3 mM NaN₃
pH-Wert: 9,6

PBS deficient: 138 mM NaCl
1,5 mM KH₂PO₄
2,7 mM KCl
6,5 mM Na₂HPO₄
pH-Wert: 7,2

Fixierlösung: 0,1 % Glutardialdehyd in
physiologischer NaCl-Lösung

Waschpuffer A: 2% NaCl
0,2% Triton X-100
in PBS deficient

Waschpuffer B: 0,05 % Tween 20 in PBS deficient

Blockierungspuffer A: 5 % foetales Kälberserum (hitzeinaktiviert)
in PBS deficient

Blockierungspuffer B: 1 % Rinderserumalbumin
0,1 % NaN₃
in PBS deficient



Verdünnungspuffer A: 2% foetales Kälberserum (hitzeinaktiviert)
in PBS deficient

Verdünnungspuffer B: PBS deficient

Färbepuffer: 24,3 mM Zitronensäure
51,4 mM Na_2HPO_4
pH-Wert: 5,0

Substrat: 40 mg o-Phenylendiamin Dihydrochlorid
100 ml Färbepuffer
20 μl H_2O_2 (30%)

Stopplösung: 4 N H_2SO_4

Beispiel 1:

In vitro kultivierte SW2 Zellen werden abzentrifugiert, das Pellet in Medium A aufgenommen und auf 7×10^4 Zellen/ml eingestellt. In den Kammern eines LabTeks werden entweder 0,1 ml PBS def mit 0,3 ml der Zellsuspension, oder 0,1 ml PBS def mit 40 μg HE2 und dann mit 0,3 ml der Zellsuspension gemischt (Endkonzentration HE2 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Unmittelbar bevor die Zellsuspension jeweils als Letztes zupipettiert wird, werden die Zellen mit der Pipette vereinzelt. Gleich nach Zusammenfügen werden die jeweiligen Zellsuspensionen im Umkehrmikroskop fotografiert (Vergrößerung 100-fach). Anschließend werden die Zellsuspensionen 4 Stunden bei 37°C / 5% CO_2 kultiviert und dann wieder fotografiert.

**Beispi I 2:**

Zwei Ziegen werden mit je 1,5 mg des F(ab)₂-Fragmentes in 3 ml PBS deficient zusammen mit 3ml von Freunds Complete Adjuvant (Difco) an multiplen Stellen intradermal vakziniert. Am Tag 8 wird eine erste Booster-Impfung wie an Tag 1 gegeben, aber mit Freunds Incomplete Adjuvans (Difco). Am Tag 29 wird in gleicher Weise eine zweite Booster-Impfung gegeben, bei der aber kein Adjuvans zugesetzt wird. Blut zur Serumgewinnung für die Analyse der entstandenen Immunantwort wird vor Impfbeginn und am Tag 54 abgenommen.

Beispiel 3:

100 µl Aliquots des MAK HE2 (Lösung mit 10µg/ml in Bindungspuffer) werden in den Löchern einer Mikrotiterplatte 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Nach sechsmaligem Waschen der Platte mit Waschpuffer A werden je 200µl des Blockierungspuffers A zugesetzt und 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Nach Waschen der Platte wie oben beschrieben werden je 100µl Aliquots der zu testenden Ziegenseren in Verdünnungen von 1:100 bis 1:1 000 000 in Verdünnungspuffer A 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Nach Waschen der Platte wie oben beschrieben werden je 100µl des Peroxidase- konjugierten Kaninchen anti-Ziegen-Ig Antikörpers (Zymed) in einer Verdünnung von 1:1000 in Verdünnungspuffer A zugesetzt und 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Platte wird viermal mit Waschpuffer A und zweimal mit Färbepuffer gewaschen. Die Antikörperbindung wird durch Zusatz von je 100µl des spezifischen Substrats nachgewiesen und die Farbreaktion durch Zugabe von je 50µl Stopplösung nach ca. 10 Minuten abgebrochen. Die Auswertung erfolgt durch Messen der optischen Dichte (OD) bei 490nm (Wellenlänge der Referenzmessung ist 620nm).

**Beispiel 4:**

Die Löcher einer Mikrotiterplatte werden mit je 100 µl einer Zellsuspension der zu testenden Zelllinie in der Konzentration von 2×10^5 Zellen/ml in Medium A über Nacht bei +4°C inkubiert. Nach Absaugen des Überstandes wird die Platte mit je 50 µl Fixierlösung pro Loch 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Absaugen des Überstandes werden je 200 µl Blockierungspuffer B zupipettiert und die Platte 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Nach zweimaligem Waschen mit je 200 µl Waschpuffer B werden je 100 µl Aliquots der zu testenden Ziegenserum in Verdünnungen von 1:10 bis 1:100 000 in Verdünnungspuffer B 1 Stunde bei 37°C inkubiert. Nach zweimaligem Waschen der Platte mit je 100 µl eiskaltem Waschpuffer B werden je 100 µl des Peroxidase- konjugierten Kaninchen anti-Ziegen-Ig Antikörpers (Zymed) in einer Verdünnung von 1:1000 in Verdünnungspuffer A zugesetzt und 45 Minuten bei 37°C inkubiert. Die Platte wird dreimal mit je 100 µl eiskaltem Waschpuffer B gewaschen. Die Antikörperbindung wird durch Zusatz von je 100 µl des spezifischen Substrats nachgewiesen und die Farbreaktion durch Zugabe von je 50 µl Stopplösung nach ca. 10 Minuten abgebrochen. Die Auswertung erfolgt durch Messen der optischen Dichte (OD) bei 490nm (Wellenlänge der Referenzmessung ist 620nm).

Beispiel 5:

Die Reinigung ist grundsätzlich in Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:216, 1984 beschrieben und wird hier wie folgt zusammengefaßt: In einem ersten Schritt wird nach bekannten Methoden an einer DEAE Anionenaustauscher Säule eine Reinigung des im Ziegenserum enthaltenen Gesamt-IgG durchgeführt. Anschließend werden an einer Immunaффinitätssäule (CH-Sepharose 4B, Pharmacia), an die irrelevantes murines IgG2a gekoppelt wurde, diejenigen Ziegenantikörper gebunden, die gegen konstante Regionen des F(ab)'₂-Fragmentes von HE2 gerichtet sind, während die Fraktion der anti-idiotypischen Ziegenantikörper nicht an dieser Säule bindet. In einem letzten Schritt wurde daher

der Durchbruch dieser Immunaффinitätschromatographie an einer Immunaффinitätssäule (CH-Sepharose 4B, Pharmacia) gebunden, an die HE2 gekoppelt wurde. Die spezifisch an diese Säule gebundene Fraktion wird mit einem Puffer pH 2,8 (0,1 M Glycin/HCl) eluiert und neutralisiert. Die so erhaltene Ziegen IgG Fraktion ist gegen den Idiotyp von HE2 gerichtet.

Beispiel 6:

Dieser Zell-ELISA wird grundsätzlich gleich ausgeführt wie in Beispiel 4 beschrieben. Statt Serumverdünnungen werden Konzentrationen von 100 µg/ml bis 0,031 µg/ml des immunaффinitätsgereinigten Ziegen IgG bzw. von unspezifischem gereinigten Ziegen IgG verwendet.

Beispiel 7:

0,83 ml einer Suspension von Alu-Gel (Alu-Gel S von Serva, 2% Suspension, Qualitätsgrad: Adjuvans zur Präparation von Vakzinen) wird unter sterilen Bedingungen mit 0,5 ml einer Lösung von 10 mg/ml HE2 in PBS pH 5,5 zusammen mit 3,67 ml PBS def. eine Stunde bei Raumtemperatur sanft geschwenkt (Endkonzentration HE2: 1 mg/ml; Alu-Gel S: 0,33 %). Die Suspension wird anschließend in 0,5 ml Aliquots in Durchstichfläschchen steril abgefüllt.

Beispiel 8:

Dieser ELISA wird grundsätzlich gleich ausgeführt wie in Beispiel 3 beschrieben, mit der Ausnahme, daß zur Detektion der gebundenen Rhesusaffenantikörper ein Peroxidase konjugierter Ziegen-anti-Human-Ig Antikörper (Zymed) verwendet wird. Mit diesem Reagens lassen sich Rhesusaffenantikörper in gleicher Weise wie Humanantikörper nachweisen, da die Sequenzhomologie der Konstantregionen von Humanantikörpern und Rhesusaffenantikörpern bei ca. 98% liegt.

Beispiel 9:

Dieser Zell-ELISA wird grundsätzlich gleich ausgeführt wie in Beispiel 4 beschrieben, mit der Ausnahme, daß zur Detektion der an die Zellen gebundenen Rhesusaffenantikörper (bzw. Humanantikörper) ein Peroxidase konjugierter Ziegen-anti-Human-Ig Antikörper (Zymed) verwendet wird. Zur Detektion des murinen HE2 als Standard wird ein Peroxidase konjugierter Ziegen-anti-Maus-IgG Antikörper (Zymed) eingesetzt.

Beispiel 10:

3,5 ml einer Lösung von HE2 (10 mg/ml in PBS def. pH=5,5) werden unter sterilen Bedingungen mit 0,35 ml einer wässrigen Thimerosallösung (10 mg /ml; Sigma) sowie 27,25 ml physiologischer Kochsalzlösung gemischt und 3,9 ml einer Aluminium-hydroxidsuspension (3% in Wasser; Alhydrogel, Superfos Biosector, Dänemark) unter vorsichtigem Schwenken versetzt. Je 0,6 ml der so erhaltenen Suspension werden dann unter sterilen Bedingungen in entpyrogenisierte Glasröhrchen abgefüllt und mit einem Gummistopfen mit Aluminiumkappe verschlossen.

Beispiel 11:

Die Plazeboformulierung wird in gleicher Weise hergestellt wie in Beispiel 10 beschrieben, nur daß statt der Antikörperlösung 3,5 ml PBS def pH=5,5 und statt der Thimerosallösung 0,35 ml physiologischer NaCl-Lösung verwendet werden.

Beispiel 12:

1 g CH-Sepharose 4B (Pharmacia) werden für 15 Minuten in 30 ml 1 mM HCl suspendiert. Das Gel wird dann mit 1 Liter 1 mM HCl und anschließend mit 200 ml Kopplungspuffer auf einem Sinterglasfilter AG3 gewaschen. 10 mg HE2

(Stammlösung 10 mg/ml) werden gegen ca 0,5 Liter Kopplungspuffer dialysiert. Diese Lösung wird mit der Gelsuspension in einem verschlossenen Gefäß vermischt. Ein Verhältnis von Gel : Puffer von 1 : 2 ergibt eine für die Kopplung geeignete Suspension. Diese Suspension wird 5,5 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wird der Überschuß des Liganden mit 3 x 30 ml Kopplungspuffer gewegewaschen. Überbleibende reaktive Gruppen werden durch einstündige Inkubation bei Raumtemperatur mit 1 M Äthanolamin geblockt. Dann wird das Gel für eine Stunde bei Raumtemperatur mit einem 0,1 M Tris-HCl Puffer pH=8 geschüttelt. Letztlich wird das Gel mit 3 Zyklen von Puffern mit alternierendem pH gewaschen. Jeder Zyklus besteht aus 0,1 M Natriumacetat Puffer pH 4 mit 0,5 M NaCl, und anschließend 0,1 M Tris-HCl Puffer pH 8 mit 0,5 M NaCl. Das Gel wird bei 4°C aufbewahrt.

Die Immunaффinitätsreinigung der gegen HE2 gerichteten Antikörperfraktion aus Serum der Rhesusaffen erfolgt nach folgender Vorschrift: Die Immunaффinitätsreinigung wird auf einem FPLC-System (Pharmacia) durchgeführt. 1 ml des nach obiger Vorschrift erhaltenen Gels wird in eine Pharmacia HR5/5 Säule gefüllt. 0,5 ml Serum werden 1:10 mit dem Reinigungspuffer A verdünnt. Diese Lösung wird mit 1 ml / Minute über die Säule gepumpt und mit Reinigungspuffer A nachgewaschen, bis die UV-Basislinie des Detektors wieder erreicht ist (280 nm). Gebundene Immunglobuline werden dann mit Reinigungspuffer B eluiert und die Fraktion mit 0,5 M Na₂HPO₄ unmittelbar nach Desorption neutralisiert und mit 0,02% NaN₃ versetzt. 50µl der so gereinigten Antikörperfraktion werden auf einer Größentrennungssäule (SEC, Zorbax 250 GF) analysiert und die IgG- und IgM- Anteile quantifiziert. Als Laufmittel für die SEC wird 220 mM Phosphatpuffer pH 7 + 10% Acetonitril verwendet. Als Standard für die SEC dient Human IgG und Human IgM, die zum Erstellen einer Standard-Eichgerade jeweils in mehreren Konzentrationen chromatographiert werden (Peakfläche vs. Konzentration). Die Berechnung der IgG- und IgM-Konzentrationen in den affinitätsgereinigten Rhesuaffen-Antikörperfraktionen erfolgt mittels Linearregression anhand der Standardkurven. Die Konzentrationen werden als µg / ml eingesetzten Affenserums angegeben.

Beispiel 13:

Ein Tag vor Durchführung des Tests werden KATO III Zellen in frisches Medium A transferiert und bei 37°C/5% CO₂ in einer Zellkulturflasche gehalten. Am nächsten Tag werden die Zellen zunächst mit ⁵¹Chrom markiert. Dabei werden 5x10⁶ Zellen in 800 µl Medium A bei 37°C/5% CO₂ mit 100 µCi Na₂⁵¹CrO₄ inkubiert, anschließend mit Medium A gewaschen und auf eine Dichte von 2.5x10⁵ Zellen/ml adjustiert. 100 µl Aliquots dieser Zellsuspension werden in Löcher einer Mikrotiterplatte pipetiert. 100 µl Aliquots der zu testenden Patientenseren werden zugegeben und 3 Stunden bei 37°C/5% CO₂ inkubiert (die Seren werden bei -80°C aufbewahrt und für diesen Test nur einmal aufgetaut, um die Aktivität des Komplements nicht zu beeinträchtigen). Die Überstände werden mit einer Skatron-Harvesting-Presse geerntet und in einem Gamma-Counter vermessen, wodurch die Werte für den "experimental release" erhalten werden. Für die Bestimmung des "total release" werden die Zellen wie oben behandelt, wobei Serum durch eine Lösung aus 2% SDS, 50 mM Na₂CO₃ and 10 mM EDTA ersetzt wird. Die Werte für den "spontaneous release" werden erhalten, in dem Serum durch Medium A ersetzt wird. Das Resultat wird wie folgt berechnet:

$$\% \text{ Lyse} = \frac{\text{experimental release} - \text{spontaneous release}}{\text{total release} - \text{spontaneous release}} \times 100$$

Der Test wird in 3-fach Werten durchgeführt und der Mittelwert und Standardabweichung der Einzelergebnisse angegeben.

Patentansprüche

1. Verwendung eines Antikörpers, der gegen ein menschliches zelluläres Membranantigen gerichtet ist, zur Herstellung eines Arzneimittels zur prophylaktischen und/oder therapeutischen Vakzinierung gegen Krebs.
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei das zelluläre Membranantigen ein Tumor-assoziiertes Antigen ist.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das zelluläre Membranantigen eine Rolle bei Adhäsionsvorgängen spielt.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei das zelluläre Membranantigen ein Antigen epithelialer Zellen ist.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das zelluläre Membranantigen zur Selbstadhäsion fähig ist.
6. Verwendung nach Anspruch 5, wobei das zelluläre Membranantigen Ep-CAM, N-CAM oder CEA ist.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei der Antikörper tierischen Ursprungs ist.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei der Antikörper ein monoklonaler Antikörper ist.
9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei der Antikörper der murine monoklonale Antikörper HE2 ist.
10. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei der Antikörper dieselbe Bindungsfeinspezifität wie der Antikörper HE2 aufweist.
11. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, wobei zwei oder mehr Antikörper, die gegen verschiedene zelluläre Membranantigene oder gegen



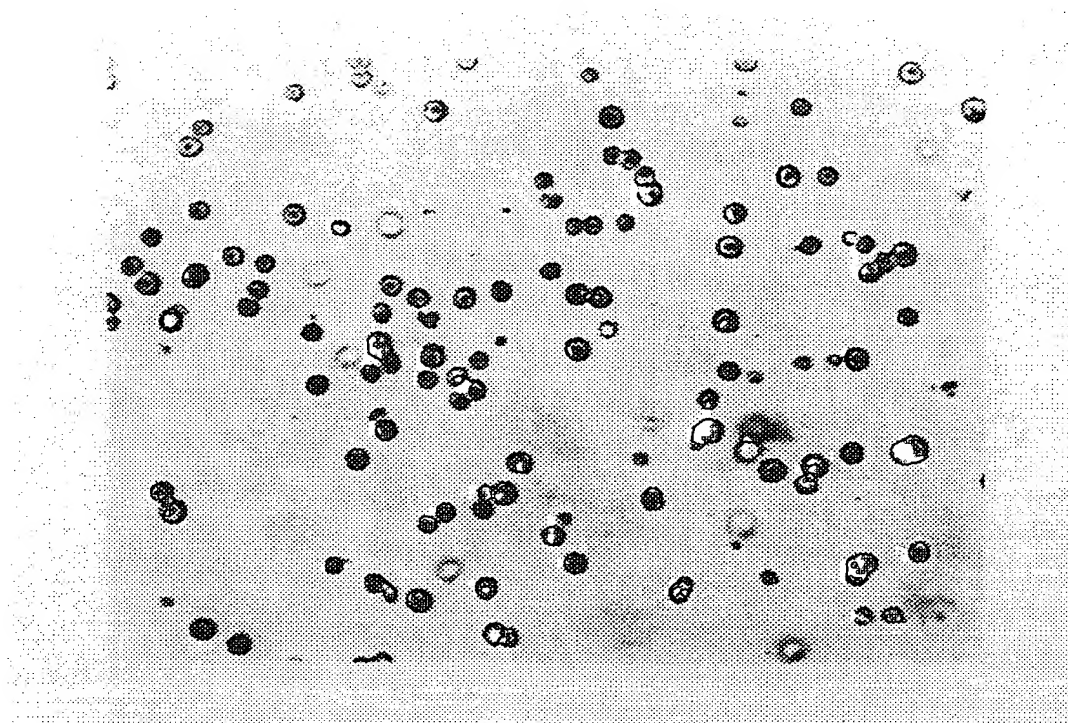
verschiedene Epitope eines Membranantigens gerichtet sind, in Kombination verwendet werden.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, wobei das Arzneimittel weiterhin mindestens noch ein Vakzine-Adjuvans enthält.
13. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei das Arzneimittel für die Verabreichung des Antikörpers in einer Dosierung im Bereich von 0,01 bis 4 mg Antikörper geeignet ist.
14. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 13, wobei das Arzneimittel zur Verabreichung durch subcutane, intradermale oder intramuskuläre Injektionen geeignet ist.

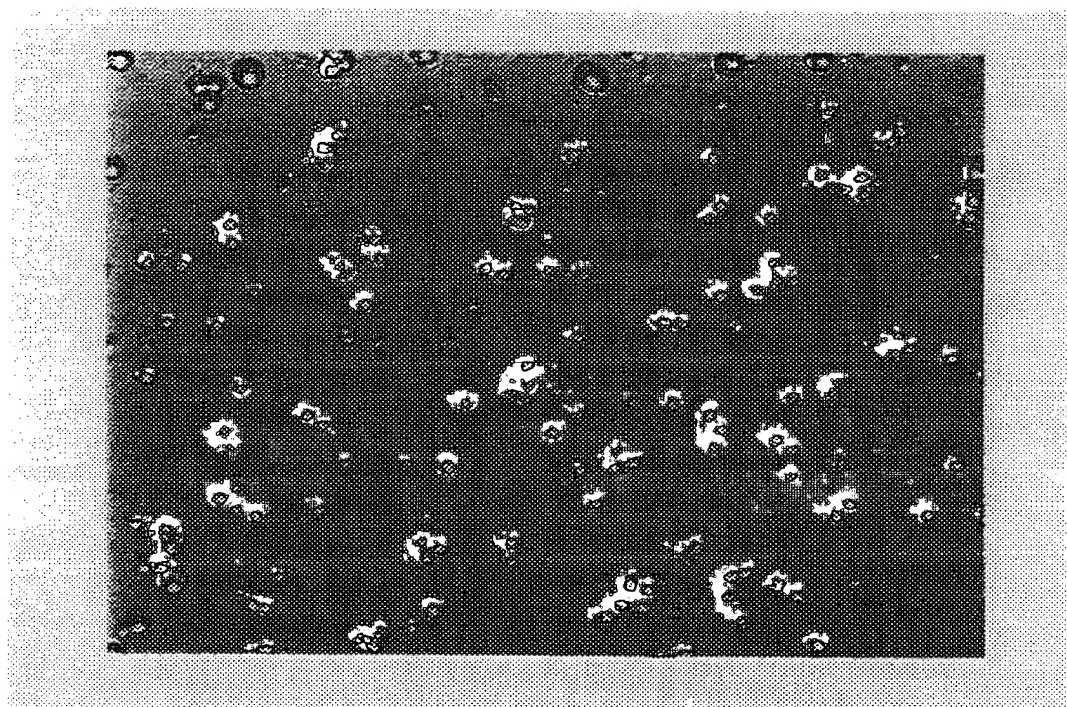
THIS PAGE BLANK (USPTO)



1/13
Figur 1



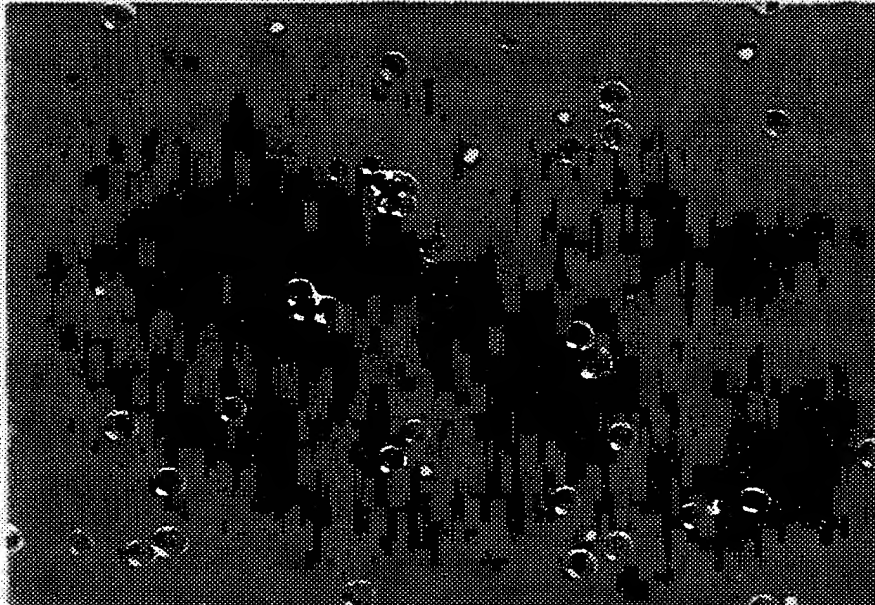
SW2 Zellen in Medium mit 100µg/ml HE2, Stunde 0



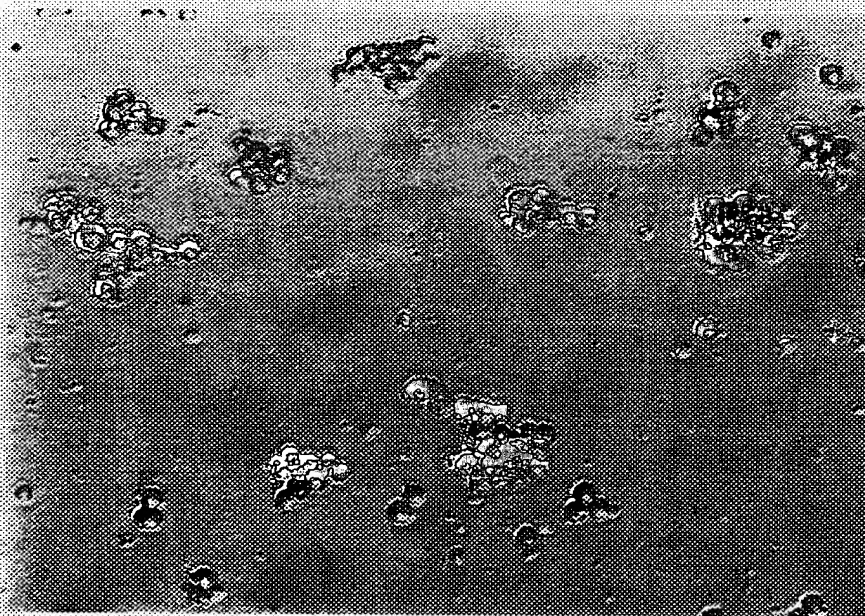
SW2 Zellen in Medium mit 100µg/ml HE2, Stunde 4

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2/13
Figur 2



SW2 Zellen in Medium, Stunde 0



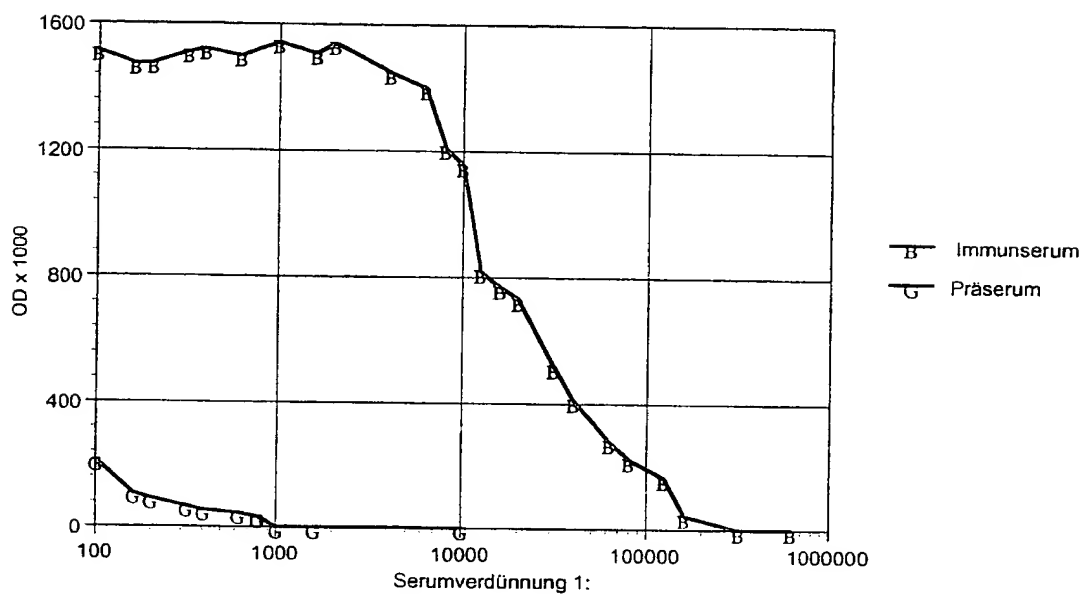
SW2 Zellen in Medium, Stunde 4

THIS PAGE BLANK (USPTO)

3/13

Figur 3

Vakzinierung von Ziegen mit HE2-F(ab)'2:
Serum Ig mit Spezifität für HE2

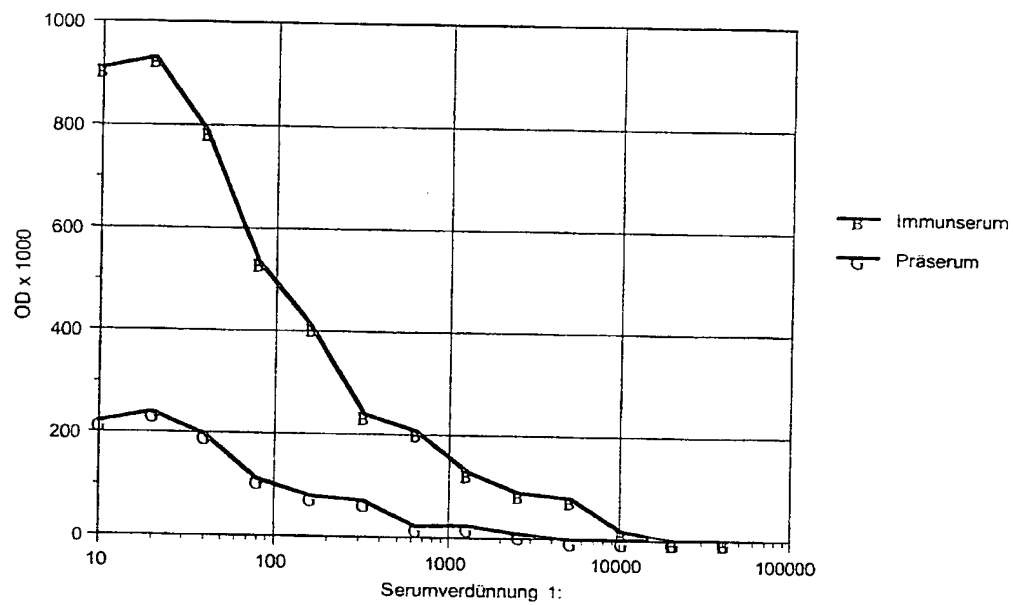


THIS PAGE BLANK (USP 777)

4/13

Figur 4

Vakzinierung von Ziegen mit HE2-F(ab)'₂:
Bindung von Serum Ig an Ep-CAM positive
menschliche Magenkrebszellen (KATO III)



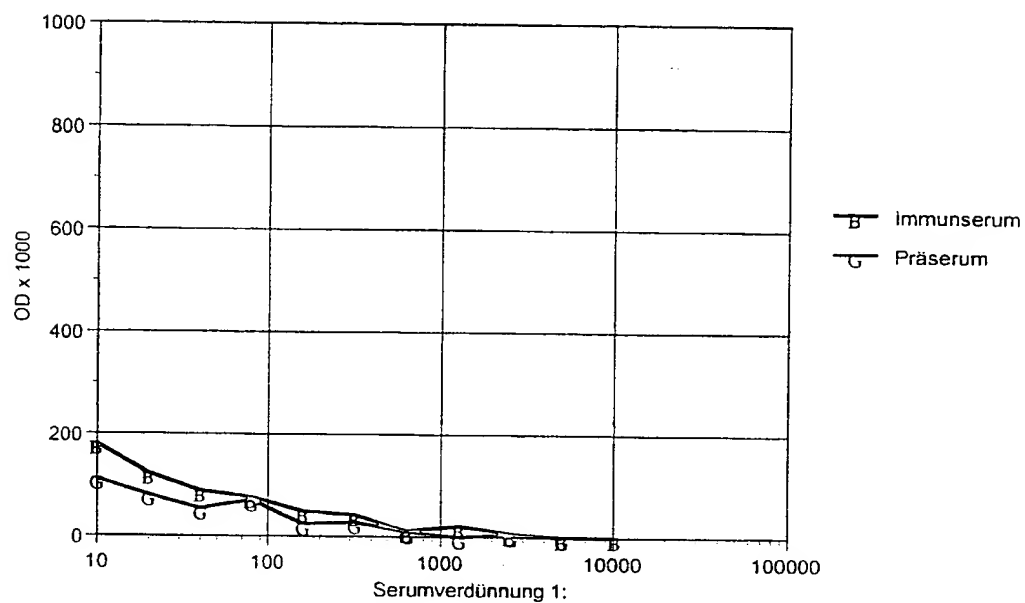
THIS PAGE BLANK (USPTO)



5/13

Figur 5

Vakzinierung von Ziegen mit HE2-F(ab)'2:
Bindung von Serum-Ig an Ep-CAM negative
menschliche Melanomzellen (WM9)



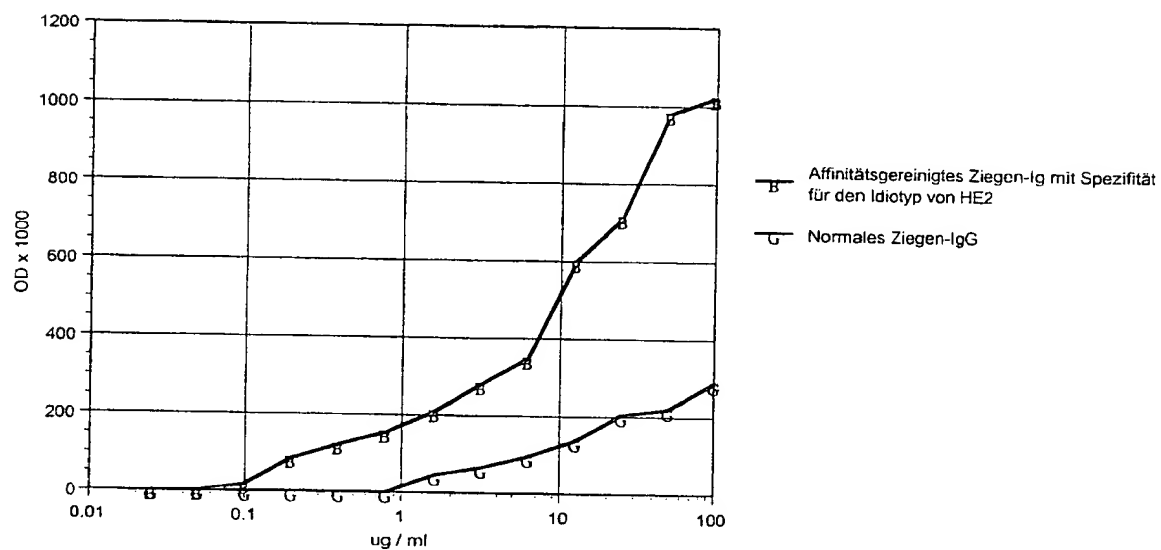
THIS PAGE BLANK (USPTO)



6/13

Figur 6

Vakzinierung von Ziegen mit HE2-F(ab)'₂:
Bindung von affinitätsgereinigtem Serum Ig an Ep-CAM positive
menschliche Magenkrebszellen (KATO III)



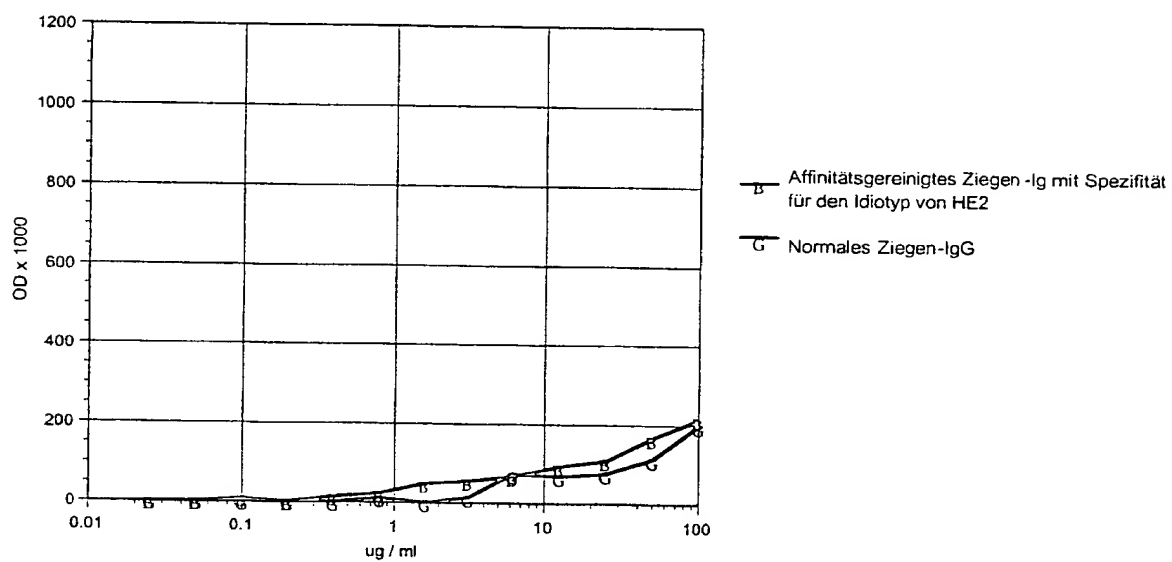
THIS PAGE BLANK (USPTO)



7/13

Figur 7

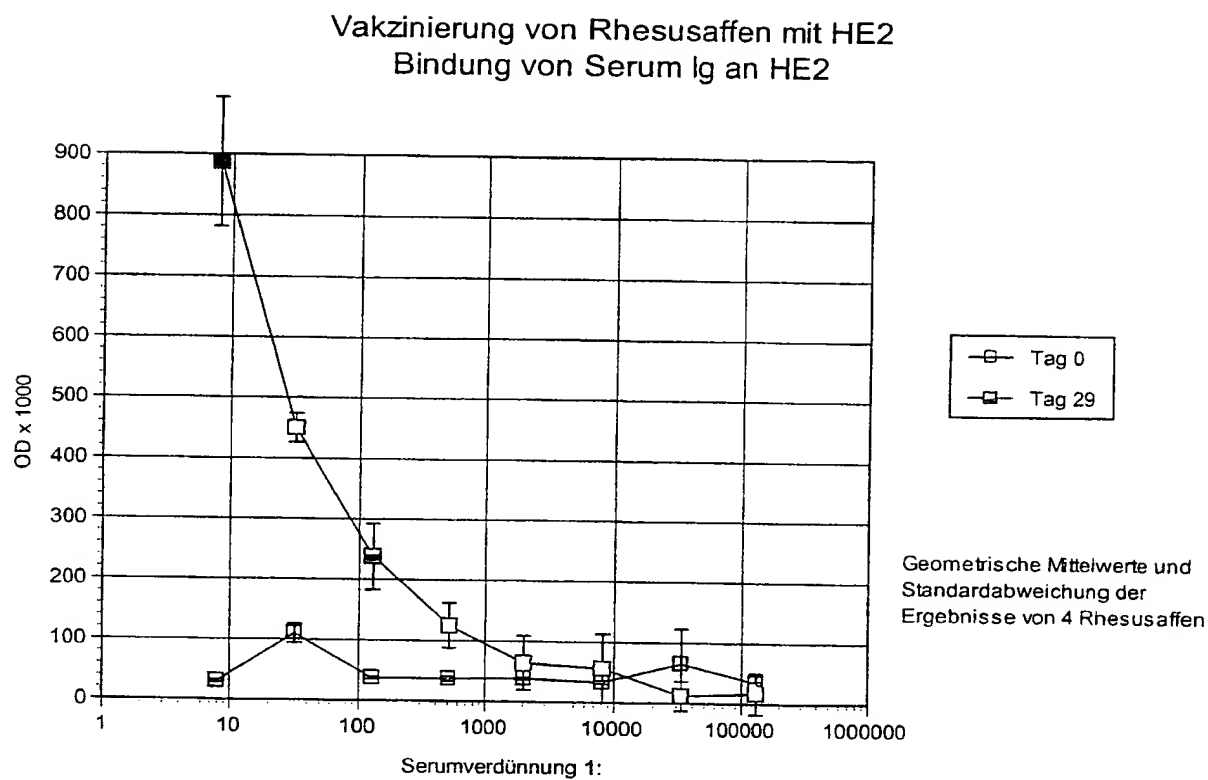
Vakzinierung von Ziegen mit HE2-F(ab)'₂:
Bindung von affinitätsgereinigtem Serum Ig an Ep-CAM negative
menschliche Melanomzellen



THIS PAGE BLANK (USPTO)

8/13

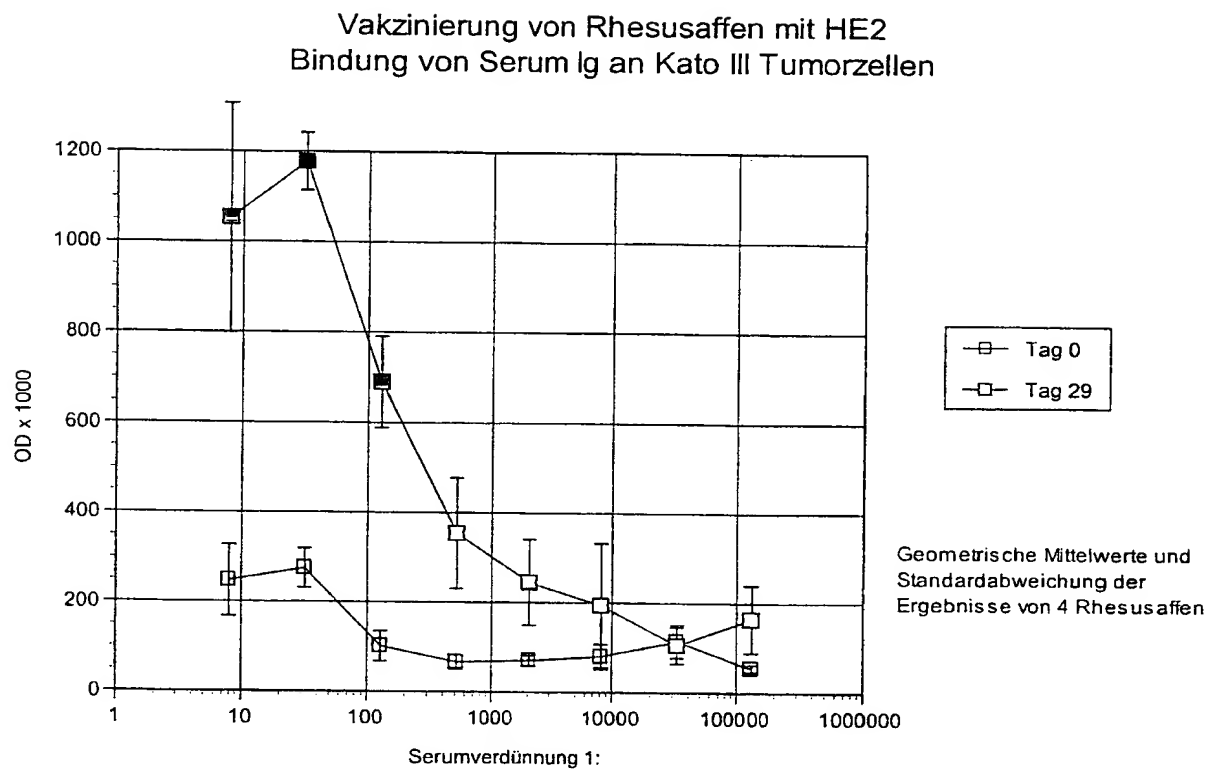
Figur 8



THIS PAGE BLANK (USPTO)

9/13

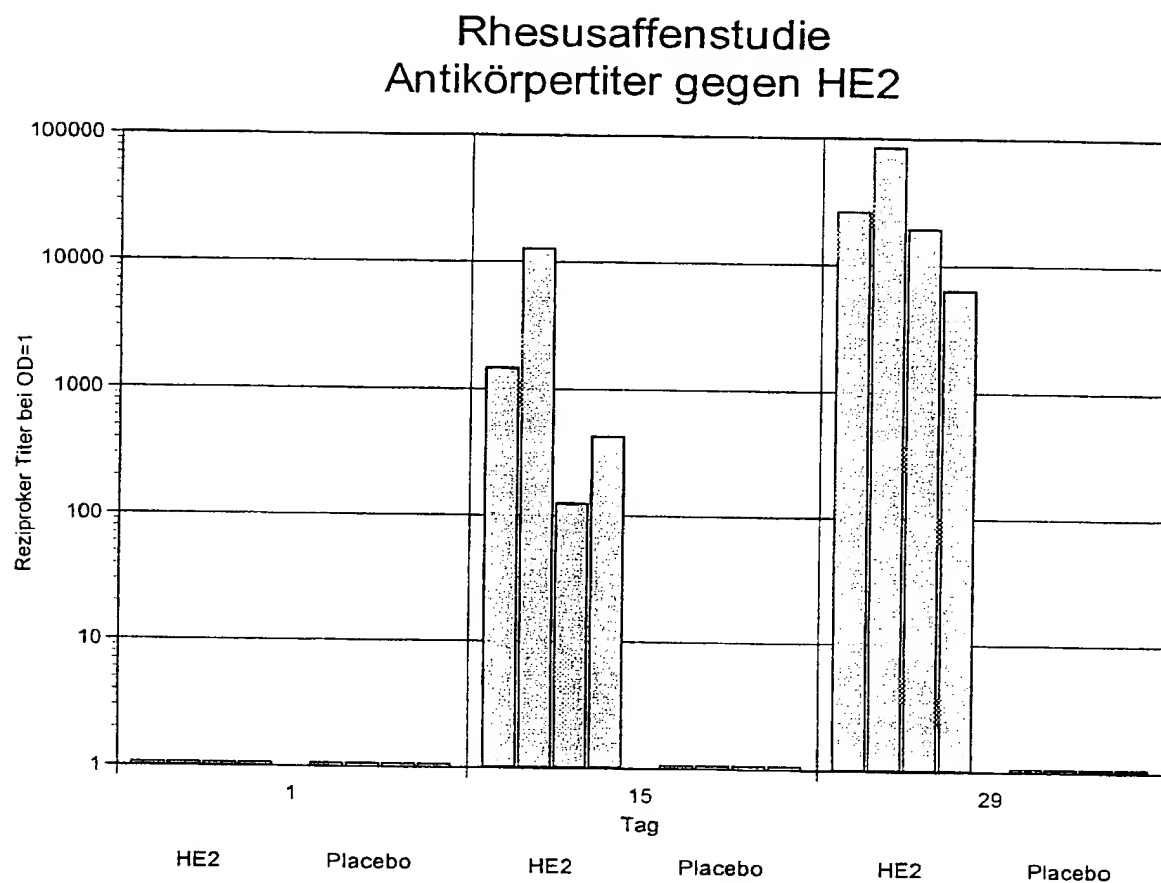
Figur 9



THIS PAGE BLANK (USPTO)

10/13

Figur 10

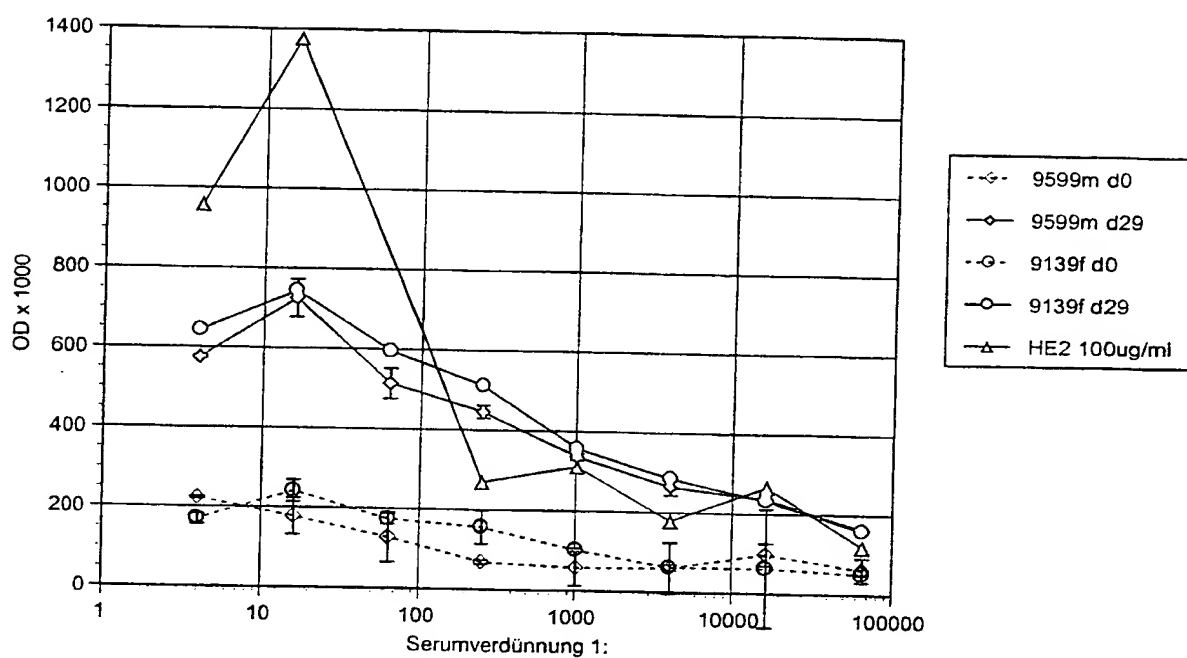


THIS PAGE BLANK (USPTO)

11/13

Figur 11

Rhesusaffenstudie:
Serum Ig gegen Kato III Tumorzellen

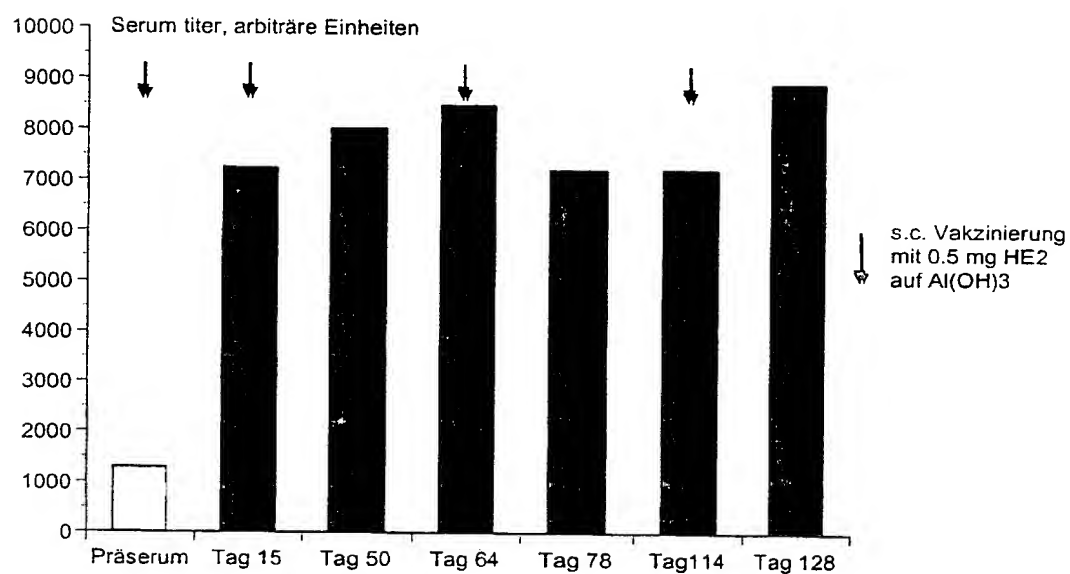


THIS PAGE BLANK (USPTO)

12/13

Figur 12

Vakzinierung eines Darmkrebspatienten mit HE2:
Induktion von Antikörpern gegen menschliche
Magenkrebszellen (KATO III)

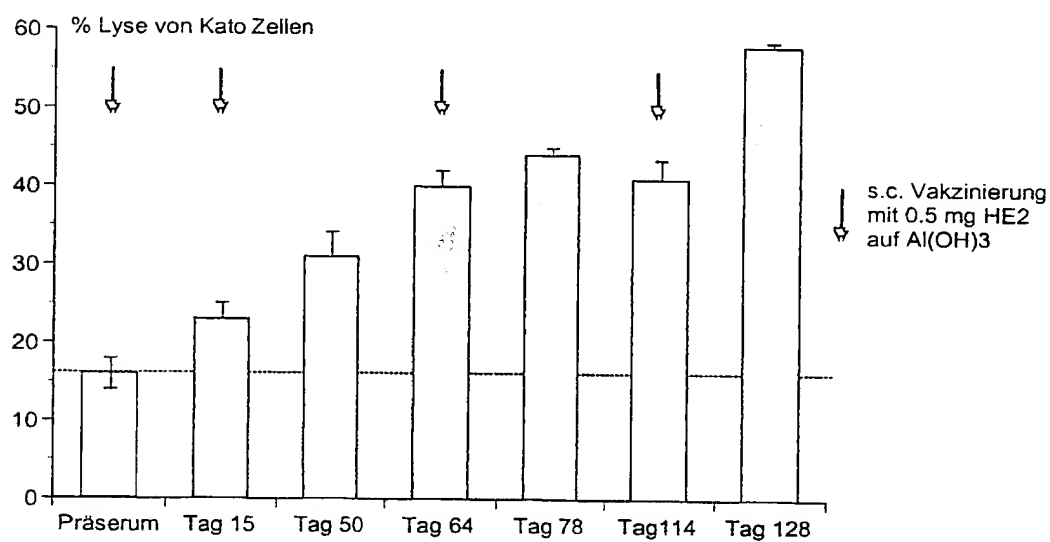


THIS PAGE BLANK (USPTO)

13/13

Figur 13

Vakzinierung eines Darmkrebspatienten mit HE2:
Induktion von Serum-Zytotoxizität gegen menschliche
Magenkrebszellen (KATO III)



THIS PAGE BLANK (USPTO)

1/2

SEQUENZPROTOKOLL

<110> IGENEON GmbH

<120> Verwendung von Antikörpern zur Vakzinierung gegen Krebs

<130> D 2923 PCT

<140>

<141>

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 116

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 1

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr
 20 25 30

Leu Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Val Ile Asn Pro Gly Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Gly Pro Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ala
 115

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Ser Val Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asn Val Val Thr Tyr
 20 25 30

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

THIS PAGE BLANK (USPTO)

35						40					45				
Tyr	Gly	Ala	Ser	Asn	Arg	Tyr	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Arg	Phe	Thr	Gly
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Ala	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Val	Gln	Ala
65					70					75					80
Glu	Asp	Leu	Ala	Asp	Tyr	His	Cys	Gly	Gln	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Pro	Tyr
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys					
			100					105							

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONALER CHERCHENBERICHT

Ir.  ales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00174

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K39/395 A61K39/39 A61P35/00 //C07K16/30

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 56416 A (HERKEL JOHANNES ;COHEN IRUN R (IL); EREZ ALON NETA (IL); ROTTER VA) 17. Dezember 1998 (1998-12-17) Seite 6, Zeile 1-19 Seite 7, Zeile 1-3 Seite 16, Zeile 1-5 Beispiele 1,2 Anspruch 1	1-8, 11-14
X	LEVEUGLE B ET AL: "PSA-directed immunotherapy of prostate cancer" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, März 1998 (1998-03), XP002117652 das ganze Dokument	1,2,4,7, 8,11,12, 14

-/-

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

23. Mai 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

30/05/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Covone, M

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 97 15597 A (CENTOCOR B V ;WARNAAR SVEN OLLE (NL); MELIEF CORNELIS JOSEPH MARIA) 1. Mai 1997 (1997-05-01) Seite 2, Zeile 4-25 Ansprüche 8-15 ----	1-8
X	CHAKRABORTY M ET AL: "Immune responses in advanced breast cancer patients treated with an anti-idiotypic antibody vaccine" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH,US,PHILADELPHIA, AACR, Bd. 38, 1997, Seite 616 XP002076982 das ganze Dokument ----	1,2,4,7, 8,11-14
X	WO 98 56419 A (CHATTERJEE MALAYA ;UNIV KENTUCKY RES FOUND (US); FOON KENNETH A (U) 17. Dezember 1998 (1998-12-17) Seite 2, Zeile 21 -Seite 3, Zeile 9 Beispiele 1,2 ----	1,2,4,7, 8,11-14
A	PERVIN S ET AL: "Proliferation of T-cells from colon cancer patients by peptides based on the structure of an anti-idiotypic antibody mimicking CEA" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH,US,PHILADELPHIA, AACR, Bd. MEETING 87, 1996, Seite 473 XP002076985 ISSN: 0197-016X das ganze Dokument ----	1-14
P,X	WO 99 65523 A (LEVEUGLE BEATRICE ;MADIYALAKAN RAGUPATHY (CA); NOUJAIM ANTOINE A () 23. Dezember 1999 (1999-12-23) Ansprüche Abbildung 1 -----	1-14

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/00174

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9856416	A	17-12-1998	AU	7672398 A	30-12-1998
			EP	0989861 A	05-04-2000
WO 9715597	A	01-05-1997	EP	0857176 A	12-08-1998
WO 9856419	A	17-12-1998	AU	8068998 A	30-12-1998
			EP	0998302 A	10-05-2000
WO 9965523	A	23-12-1999	AU	4159499 A	05-01-2000

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inventor's Application No

PCT/EP 00/00174

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K39/395 A61K39/39 A61P35/00 //C07K16/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 56416 A (HERKEL JOHANNES ; COHEN IRUN R (IL); EREZ ALON NETA (IL); ROTTER VA) 17 December 1998 (1998-12-17) page 6, line 1-19 page 7, line 1-3 page 16, line 1-5 examples 1,2 claim 1	1-8, 11-14
X	LEVEUGLE B ET AL: "PSA-directed immunotherapy of prostate cancer" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, March 1998 (1998-03), XP002117652 the whole document	1,2,4,7, 8,11,12, 14

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 May 2000

Date of mailing of the international search report

30/05/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Covone, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 00/00174

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 15597 A (CENTOCOR B V ;WARNAAR SVEN OLLE (NL); MELIEF CORNELIS JOSEPH MARIA) 1 May 1997 (1997-05-01) page 2, line 4-25 claims 8-15	1-8
X	CHAKRABORTY M ET AL: "Immune responses in advanced breast cancer patients treated with an anti-idiotypic antibody vaccine" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH,US,PHILADELPHIA, AACR, vol. 38, 1997, page 616 XP002076982 the whole document	1,2,4,7, 8,11-14
X	WO 98 56419 A (CHATTERJEE MALAYA ;UNIV KENTUCKY RES FOUND (US); FOON KENNETH A (U) 17 December 1998 (1998-12-17) page 2, line 21 -page 3, line 9 examples 1,2	1,2,4,7, 8,11-14
A	PERVIN S ET AL: "Proliferation of T-cells from colon cancer patients by peptides based on the structure of an anti-idiotypic antibody mimicking CEA" PROCEEDINGS OF THE ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH,US,PHILADELPHIA, AACR, vol. MEETING 87, 1996, page 473 XP002076985 ISSN: 0197-016X the whole document	1-14
P,X	WO 99 65523 A (LEVEUGLE BEATRICE ;MADIYALAKAN RAGUPATHY (CA); NOUJAIM ANTOINE A () 23 December 1999 (1999-12-23) claims figure 1	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int. Application No

PCT/EP 00/00174

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9856416 A	17-12-1998	AU 7672398 A EP 0989861 A	30-12-1998 05-04-2000
WO 9715597 A	01-05-1997	EP 0857176 A	12-08-1998
WO 9856419 A	17-12-1998	AU 8068998 A EP 0998302 A	30-12-1998 10-05-2000
WO 9965523 A	23-12-1999	AU 4159499 A	05-01-2000

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

VOSSIUS & PARTNER
P.O. Box 86 07 67
D-81634 München
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 09 July 2001 (09.07.01)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference D 2923 PCT	
International application No. PCT/EP00/00174	International filing date (day/month/year) 12 January 2000 (12.01.00)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address IGENEON GMBH Brunner Strasse 59 A-1230 Vienna Austria	State of Nationality AT	State of Residence AT
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address IGENEON KREBS-IMMUNTHERAPIE FORSCHUNGS- UND ENTWICKLUNGS-AG Brunner Strasse 59 A-1230 Vienna Austria	State of Nationality AT	State of Residence AT
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer Elisabeth KÖNIG Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C. 20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)
10 October 2000 (10.10.00)

International application No.
PCT/EP00/00174

Applicant's or agent's file reference
D 2923 PCT

International filing date (day/month/year)
12 January 2000 (12.01.00)

Priority date (day/month/year)
13 January 1999 (13.01.99)

Applicant

ECKERT, Helmut et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

10 August 2000 (10.08.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

S. Mafla

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)